

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
13 mars 2003 (13.03.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 03/020972 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68,  
C07K 14/31, C12N 15/31

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR02/03012

(22) Date de dépôt international :  
5 septembre 2002 (05.09.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
01/11514 6 septembre 2001 (06.09.2001) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) :  
BIOMERIEUX [FR/FR]; F-69280 Marcy l'Etoile (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : RAOULT,  
Didier [FR/FR]; 80, rue de Lorraine, F-13008 Marseille  
(FR). DRANCOURT, Michel [FR/FR]; 9, Traverse de la  
Pauline, F-13012 Marseille (FR).

(74) Mandataire : DOMANGE, Maxime; Cabinet Beau de  
Loménie, 232, avenue du Prado, F-13295 Marseille Cedex  
08 (FR).

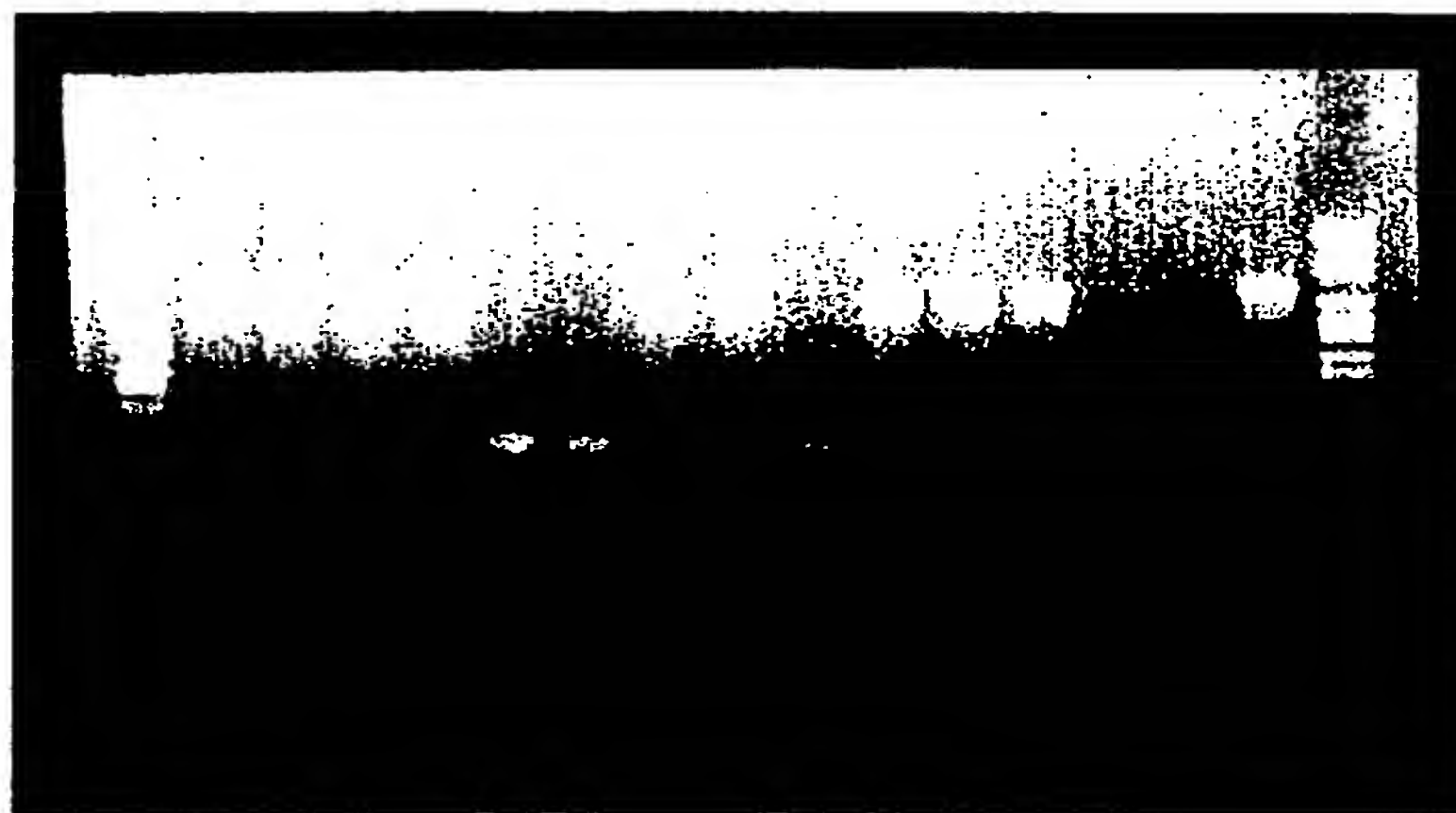
(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: MOLECULAR IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCUS-TYPE BACTERIA

(54) Titre : IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



(57) Abstract: The invention relates to a method of detecting, by means of molecular identification, a bacterium from one of the *Staphylococcus*-type species. The inventive method is characterised in that the following are used: a fragment of the *rpoB* gene of said bacterium, comprising a nucleotide sequence selected from one of the SEQ.ID. n° 11 to 39 sequences, the reverse sequences and the complementary sequences; or an oligonucleotide comprising a sequence having at least 12 consecutive nucleotide patterns included in one of the SEQ.ID. n° 7 to 10 sequences, in which N represents a nucleotide selected from inosine and an equimolar mixture of 4 different nucleotides selected from A, T, C or G and from the oligonucleotides of the reverse sequences and complementary sequences.

[Suite sur la page suivante]

**BEST AVAILABLE COPY**



WO 03/020972 A1



SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale  
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii)) pour toutes les désignations

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé : Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise : un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et les séquences complémentaires, ou un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et parmi les oligonucléotides des séquences inverses et séquences complémentaires.

### Identification moléculaire des bactéries du genre *Staphylococcus*

La présente invention concerne le domaine du diagnostic. Plus précisément, l'invention concerne une méthode pour l'identification moléculaire  
5 des bactéries du genre *Staphylococcus* par les techniques de détection et/ou d'amplification et séquençage à l'aide de sondes ou d'amorces oligonucléotidiques appliquées à des souches de ce genre bactérien.

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des bactéries cocciformes, Gram-positive et catalase-positive dont on reconnaît actuellement 36 espèces  
10 dont 9 comprennent des sous-espèces [Euzéby JP. (1997) Int J Syst Bacteriol 47 :590-2]. Ces espèces sont coagulase-négative, à l'exception de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus delphinii*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, et quelques souches de *Staphylococcus hyicus* [Kloos WE (1995) In Manual of Clinical Microbiology, pp  
15 282-298, ASM Press]. Ces espèces sont facilement et fréquemment isolées et cultivées à partir de prélèvements environnementaux, de prélèvements cliniques vétérinaires et de prélèvements cliniques humains [Kloos WE (1986) in Bergey's manual of Systematic Bacteriology, pp. 1013-1035, Williams & Wilkins]. Chez l'homme, *Staphylococcus aureus* est une espèce coagulase-positive  
20 responsable d'intoxication alimentaire liée à la production d'une entérotoxine, du choc toxique staphylococcique, et d'infections purulentes caractérisées par des métastases septiques à distance du foyer infectieux initial. Les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline, qui est l'antibiotique de première ligne pour combattre ces infections, représentent un problème  
25 important de santé publique dans le cadre des infections nosocomiales, c'est à dire des infections contractées par les patients dans le cours de leur hospitalisation dans un établissement de soins. Les bactéries des espèces du genre *Staphylococcus* coagulase-négative font partie de la flore normale chez l'homme. Ces espèces sont également responsables d'infections nosocomiales,  
30 en particulier d'infection des matériels étrangers implantés en particulier des prothèses implantées [Kloos WE (1994) Clin. Microbiol. Rev. 7 :117-140].

Ces différentes espèces posent le problème de leur identification. Les méthodes conventionnelles d'identification phénotypique sont les plus couramment utilisées pour l'identification des bactéries des espèces du genre

*Staphylococcus* [Kloos WE (1991) J. Clin. Microbiol. 29 :738-744] et plusieurs trousse d'identification ainsi que des automates ont été développés pour aider à l'identification phénotypique des bactéries du genre *Staphylococcus*. Cependant, le degré d'identification en pratique courante est variable [Grant CE (1994) 5 Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18 :1-5 ; Perl TM (1994) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18,151-5 ; Refshal K (1992) J. Hosp. Infect. 22,19-31] : par exemple, les bactéries appartenant aux espèces *Staphylococcus hominis* et *Staphylococcus warneri* sont confondues par la plupart de ces systèmes, avec des taux d'erreurs de 27 à 36% [Gran CE (1994) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 18 :1-5 ; leven M 10 (1995) J. Clin. Microbiol. 33 :1060-3]. De même, *Staphylococcus schleiferi* peut être mal identifié par les systèmes d'identification automatique [Calvo J (2000) J. Clin. Microbiol. 38 :3887-9]. Les méthodes moléculaires peuvent donner en théorie de meilleurs résultats pour l'identification des bactéries du genre *Staphylococcus* du fait de leurs qualités de sensibilité et de spécificité. Les cibles 15 moléculaires actuellement proposées pour l'identification moléculaire des bactéries du genre *Staphylococcus* comprennent le gène 16S rADN codant la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal [Bialkowska-Hobrzanska H et al. (1990) Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. 9:588-594], l'entretoise des gènes codant les ARN de transfert [Maes N. et al. (1997) J. Clin. Microbiol. 35 :2477-2481], le gène *hsp60* 20 codant pour la protéine de stress 60 [Goh SH et al. (1996) J. Clin. Microbiol. 34 :818-823 ; Goh SH (1997) J. Clin. Microbiol. 35,3116-3121 ; Kwok AY (1999) Int J Syst Bacteriol 49,1181-1192] et le gène *femA* [Vannuffel P et al. Res. Microbiol. 150 :129-141]. L'hybridation d'oligonucléotides est la technique généralement proposée pour cibler ces régions d'identification. La détection du 25 gène *nuc* est limitée aux bactéries de l'espèce *Staphylococcus aureus* [Brakstad OG (1992) J. Clin. Microbiol. 30 :1654-1660] et un fragment chromosomique a été rapporté pour l'identification des bactéries de l'espèce *Staphylococcus epidermidis* [Martineau F (1996) J. Clin. Microbiol. 34 :2888-2893]. Il existe donc toujours une demande d'un outil d'identification moléculaire des bactéries des 30 espèces du genre *Staphylococcus* utilisable en routine au laboratoire de bactériologie [Kleeman KT (1993) J. Clin. Microbiol. 31,1318-1321].

Les inventeurs ont démontré selon la présente invention, que le gène *rpoB* constitue un marqueur génétique permettant la détection et l'identification spécifique de la bactérie de chaque espèce du genre *Staphylococcus*.

Plus particulièrement, la présente invention concerne des séquences  
5 d'acides nucléiques spécifiques du genre ou de chaque espèce du genre *Staphylococcus* dont la séquence nucléotidique est tirée du gène *rpoB* des dites bactéries.

Selon Lazcano et al. [J. Mol. Evol. (1988) 27 :365-376], les ARN  
polymérases sont divisées en deux groupes selon leur origine, l'un constitué par  
10 les ARN polymérases virales ARN- ou ADN-dépendantes, et l'autre constitué par  
les ARN polymérases ADN-dépendantes d'origine eucaryote ou procaryotes  
(archaébactéries et eubactéries). Les ARN polymérases ADN-dépendantes  
eubactériennes sont caractérisées par une constitution multimérique simple et  
conservée notée « core enzyme », représentée par  $\alpha\beta\beta'$ , ou « holoenzyme »  
15 représentée par  $\alpha\beta\beta'\sigma$  [Yura and Ishihama, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97].  
De nombreux travaux ont mis en évidence le rôle fonctionnel, au sein du  
complexe enzymatique multimérique, de la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase  
eubactérienne. Les ARN polymérases archaébactérienne et eucaryote  
présentent, pour leur part, une structure plus complexe pouvant atteindre une  
20 dizaine, voire une trentaine de sous-unités [Pühlet et al. Proc . Natl. Acad. Sci.  
USA (1989) 86 :4569-4573].

Les gènes qui codent les différentes sous-unités  $\alpha\beta\beta'\sigma$  de l'ARN  
polymérase ADN-dépendante chez les eubactéries, respectivement les gènes  
*rpoA*, *rpoB*, *rpoC* et *rpoD*, sont classés en différents groupes comprenant les  
25 gènes codant pour des protéines constitutives des sous-unités ribosomiques ou  
pour des enzymes impliqués dans la réplication et la réparation du génome  
[Yura and Yshihma, Ann. Rev. Genet. (1979) 13 :59-97]. Certains auteurs ont  
montré que les séquences des gènes *rpoB* et *rpoC* pouvaient être utilisées afin  
de construire des arbres phylogénétiques [Rowland et al. Biochem. Soc. Trans.  
30 (1992) 21 :40S] permettant de séparer les différents embranchements et sous-  
embranchements parmi les règnes du vivant.

Avant d'exposer plus en détail l'invention, différents termes, utilisés dans  
la description et les revendications, sont définis ci-après:



- par « acide nucléique extrait de bactéries » on entend soit l'acide nucléique total, soit l'ADN génomique, soit les ARN messagers, soit encore l'ADN obtenu à partir de la transcription inverse des ARN messagers ;
- un « fragment nucléotidique » ou un « oligonucléotide » sont deux termes  
5 synonymes désignant un enchainement de motifs nucléotidiques caractérisé par une séquence informationnelle des acides nucléiques naturels (ou éventuellement modifiés) et susceptibles de s'hybrider, comme les acides nucléiques naturels, avec un fragment nucléotidique complémentaire ou sensiblement complémentaire, dans des conditions prédéterminées de  
10 stringence stricte. L'enchainement peut contenir des motifs nucléotidiques de structure différente de celle des acides nucléiques naturels. Un fragment nucléotidique (ou oligonucléotide) peut contenir par exemple jusqu'à 100 motifs nucléotidiques. Il contient généralement au moins 10, et en particulier au moins 12 motifs nucléotidiques et peut être obtenu à partir d'une molécule d'acide  
15 nucléique naturelle et/ou par recombinaison génétique et/ou par synthèse chimique,
- un motif nucléotidique est dérivé d'un monomère qui peut être un nucléotide naturel d'acide nucléique dont les éléments constitutifs sont un sucre, un groupement phosphate et une base azotée choisie parmi l'adénine  
20 (A), la guanine (G), l'uracile (U), la cytosine (C), la thymine (T) ; ou bien le monomère est un nucléotide modifié dans l'un au moins des trois éléments constitutifs précédents ; à titre d'exemple, la modification peut intervenir soit au niveau des bases, avec des bases modifiées telles que l'inosine, qui peut s'hybrider avec toute base A, T, U, C ou G, la méthyl-5-désoxycytidine, la  
25 désoxyuridine, la diméthylamino-5-désoxyuridine ou toute autre base modifiée capable d'hybridation, soit au niveau du sucre, par exemple le remplacement d'au moins un désoxyribose par un polyamide [Nielsen PE et al., Science (1991) 254 :1497-1500], soit encore au niveau du groupement phosphate, par exemple par remplacement par des esters choisis notamment parmi les  
30 diphosphates, les alkylphosphonates et les phosphorothioates,
- par « hybridation », on entend le processus au cours duquel, dans des conditions appropriées, deux fragments nucléotidiques ayant des séquences suffisamment complémentaires sont susceptibles de s'associer par des

liaisons hydrogène stables et spécifiques, peut former un double brin. Les conditions d'hybridation sont déterminées par la « stringence », c'est à dire la rigueur des conditions opératoires. L'hybridation est d'autant plus spécifique qu'elle est effectuée à plus forte stringence. La stringence est fonction notamment de la composition en bases d'un duplex sonde/cible, ainsi que par le degré de mésappariement entre deux acides nucléiques. La stringence peut également être fonction des paramètres de la réaction d'hybridation, tels que la concentration et le type d'espèces ioniques présentes dans la solution d'hybridation, la nature et la concentration d'agents dénaturants et/ou la température d'hybridation. La stringence des conditions dans lesquelles une réaction d'hybridation doit être réalisée dépend notamment des sondes utilisées. Toutes ces données sont bien connues et les conditions appropriées peuvent éventuellement être déterminées dans chaque cas par des expériences de routine. En général, selon la longueur des sondes utilisées, la température pour la réaction d'hybridation est comprise entre environ 20 et 65°C, en particulier entre 35 et 65°C dans une solution saline à une concentration d'environ 0,8 à 1 M.

- une « sonde » est un fragment nucléotidique possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour former un complexe d'hybridation avec un acide nucléique ayant, dans le cas présent, une séquence nucléotidique comprise soit dans un ARN messager, soit dans un ADN obtenu par transcription inverse dudit ARN messager, produit de transcription ; une sonde peut être utilisée à des fins de diagnostic (notamment sondes de capture ou de détection) ou à des fins de thérapie,
- 25 - une « sonde de capture » est une sonde immobilisée ou immobilisable sur un support solide par tout moyen approprié, par exemple par covalence, par adsorption, ou par synthèse directe sur un solide. Des exemples de supports comprennent les plaques de microtitration et les puces à ADN,
- une « sonde de détection » est une sonde marquée au moyen d'un agent marqueur choisi par exemple parmi les isotopes radioactifs, les enzymes, en particulier les enzymes susceptibles d'agir sur un substrat chromogène, fluorigène ou luminescent (notamment une peroxydase ou une phosphatase alcaline), les composés chimiques chromophores, les composés chromogènes,
- 30

fluorigènes ou luminescents, les analogues des bases nucléotidiques et les ligands tels que la biotine,

- une « sonde d'espèce » est une sonde permettant l'identification spécifique de l'espèce d'une bactérie,
- 5 - une « sonde de genre » est une sonde permettant l'identification spécifique du genre d'une bactérie,
- une « amorce » est une sonde comprenant par exemple 10 à 100 motifs nucléotidiques et possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées pour les réactions d'amplification enzymatique,
- 10 - par « réaction d'amplification » on entend une réaction de polymérisation enzymatique, par exemple dans une technique d'amplification telle que la PCR, initiée par des oligonucléotides amorces et utilisant une ADN polymérase.
- par « réaction de séquençage », on entend l'obtention de la séquence d'un fragment d'acide nucléique ou d'un gène complet par un procédé de polymérisation abortive à partir d'amorces oligonucléotidiques et utilisant  
15 lesdits didésoxynucléotides (Sanger F, Coulson AR (1975), J.Mol.Biol. 94 : 441) ou par hybridations multiples avec des sondes multiples fixées sur support solide telles qu'utilisées dans les puces ADN par exemple.

Les inventeurs ont déterminé les séquences complètes des gènes *rpoB*  
20 de quatre espèces de bactéries du genre *Staphylococcus*. Ces quatre espèces ont été choisies par les inventeurs comme représentant les quatre principaux groupes génétiques déterminés sur la base de l'étude du gène 16S dans les bactéries du genre *Staphylococcus*, à savoir les espèces phylogénétiquement les plus divergentes parmi l'ensemble des espèces actuellement décrites dans  
25 ce genre, de sorte que l'alignement des séquences *rpoB* obtenues chez ces quatre espèces puisse encadrer phylogénétiquement vraisemblablement l'ensemble des séquences *rpoB* de toutes les espèces de ce genre bactérien.

Les inventeurs ont mis en évidence les séquences consensus et spécifiques SEQ.ID. n° 7 à 10 décrites dans le listage des séquences en fin de  
30 description. Les inventeurs ont déterminé lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 comme étant non seulement consensuelles entre toutes les bactéries du genre *Staphylococcus* mais en outre spécifiques de la famille des bactéries du genre



*Staphylococcus*, excepté *Staphylococcus schleiferi* en ce qui concerne la séquence SEQ.ID. n°8.

Ces séquences sont présentes dans les gènes *rpoB* de toute bactérie du genre *Staphylococcus* et spécifiques des bactéries du genre *Staphylococcus*  
5 pouvant être utilisées à titre de sonde de genre pour détecter toute bactérie du genre *Staphylococcus* excepté *Staphylococcus schleiferi* en ce qui concerne la séquence SEQ.ID. N° 8.

Dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10, le nucléotide N mentionné dans le listage de séquences en fin de description, peut représenter l'inosine ou un  
10 mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C et Gt, ou respectivement A, U, C et G, dans la mesure où, comme mentionné dans les définitions, un oligonucléotide ou un fragment d'acide nucléique selon l'invention peut être sous forme d'un acide des oxyribonucléiques (ADN) ou d'un acide ribonucléique (ARN) pour lesquels, dans ce cas, T est remplacé par U.

Lorsque "N" représente un dit mélange équimolaire de nucléotides à une position donnée, cela signifie que le nucléotide à ladite position donnée représente indifféremment A, T, C ou G (ou respectivement le cas échéant A, U, C ou G) et que l'oligonucléotide selon l'invention est constitué plus précisément d'un mélange équimolaire de 4 groupes d'oligonucléotides dans chacun  
15 desquels groupes N a une signification différente à ladite position donnée et représente respectivement chacun des 4 bases A, T, C ou G (ou respectivement A, U, C ou G).

A la position correspondant à un nucléotide N dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 on trouve des nucléotides variables dans les séquences  
25 cibles complémentaires en fonction de l'espèce de la bactérie considérée, mais tous les autres nucléotides sont conservés dans toutes les espèces des bactéries du genre *Staphylococcus*. Du fait que "N" représente l'inosine qui peut s'hybrider avec toute base ou un mélange équimolaire des 4 bases A, T, C, G, les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 peuvent s'hybrider avec la séquence  
30 complémentaire incluse dans le gène *rpoB* de toutes les bactéries du genre *Staphylococcus*.

En outre, les séquences consensus SEQ.ID. n° 9 et SEQ ID n°10 encadrent des séquences hypervariables dont la séquence est spécifique pour

chaque espèce de bactérie du genre *Staphylococcus*. Les séquences encadrées par SEQ.ID. n° 9 et 10 peuvent donc être utilisées à titre de sonde d'espèce des bactéries du genre *Staphylococcus*.

De plus, les séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ont été déterminées comme encadrant un fragment du gène *rpoB* comprenant une zone dont la longueur variable est d'environ 500 pb et constitue la plus courte séquence spécifique pour chaque espèce de la bactérie du genre *Staphylococcus*.

Les inventeurs ont ainsi pu mettre en évidence des sondes d'espèce pour chacune des 29 espèces de bactérie du genre *Staphylococcus* étudiées correspondant aux séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 encadrées par les séquences consensus SEQ.ID. n° 9 et 10.

Les séquences consensus SEQ.ID. N° 7 à 10 mises en évidence selon la présente invention, peuvent être utilisées à titre d'amorce d'amplification ou de réaction de séquençage dans des procédés de détection de bactérie du genre *Staphylococcus* par identification moléculaire.

Les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 permettent donc non seulement de préparer des sondes de genre des bactérie du genre *Staphylococcus* mais aussi de détecter et identifier l'espèce de ladite bactérie par amplification et séquençage en utilisant lesdites séquences comme amorces.

Plus précisément, la présente invention fournit un procédé de détection par identification d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise :

- le gène *rpoB* de ladite bactérie ou un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, comprenant une séquence nucléotidique choisie parmi l'une des séquences SEQ.ID n°11 à 29 et 31 à 39, les séquences inverses et les séquences complémentaires, ou

- un fragment dudit gène *rpoB* de ladite bactérie, consistant dans la séquence nucléotidique SEQ.ID n°30, la séquence inverse et la séquence complémentaire, ou

- un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs, incluses dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine ou un

mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, les séquences inverses et les séquences complémentaires.

Lesdits oligonucléotides comprennent de préférence de 12 à 35 motifs nucléotidiques, et de préférence encore, lesdits oligonucléotides consistent dans  
5 les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, les séquences inverses et les séquences complémentaires.

Dans un premier mode de réalisation d'un procédé de détection selon l'invention, on cherche à mettre en évidence la présence d'une bactérie du genre *Staphylococcus* et, dans une première variante, on réalise les étapes dans  
10 lesquelles :

1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, les séquences inverses et les séquences complémentaires, et

15 2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine la présence d'une dite bactérie du genre *Staphylococcus* s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

Dans une deuxième variante de réalisation d'un procédé de détection  
20 d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits oligonucléotides comprenant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques incluse dans au moins deux séquences tirées des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, séquences inverses et séquences complémentaires, avec un échantillon  
25 contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, avec :

- comme amorce 5' : un oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou les séquences complémentaires, de préférence un oligonucléotide consistant  
30 dans lesdites séquences complètes, et

- comme amorce 3' : un oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 10 ou 8 ou respectivement une séquence

complémentaire, de préférence un oligonucléotide consistant dans lesdites séquences complètes.

2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

Plus particulièrement dans cette deuxième variante du premier mode de réalisation, on utilise comme amorce 5' un oligonucléotide de séquence SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou une séquence complémentaire, et comme amorce 3' un oligonucléotide de séquence SEQ.ID. n° 10 ou respectivement une séquence complémentaire.

Dans un deuxième mode de réalisation du procédé de détection d'une bactérie selon l'invention, on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Staphylococcus* choisie parmi les espèces *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*, *Staphylococcus muscae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*, *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus felis*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus aureus subs. aureus*, *Staphylococcus aureus subs. anaerobius*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*.

Dans une première variante de ce deuxième mode de réalisation du procédé selon l'invention, on réalise les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde d'espèce consistant dans un dit fragment de gène comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et séquences complémentaires, de préférence un oligonucléotide consistant dans

l'une desdites séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, ou un oligonucléotide de séquence inverse ou complémentaire, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon.

5 Dans une seconde variante de ce dit deuxième mode de réalisation du procédé selon l'invention dans lequel on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du genre *Staphylococcus* choisie parmi les 29 espèces citées ci-dessus, le procédé comprend les étapes dans lesquelles, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au  
10 moins une dite bactérie :

a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans des oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans les séquences SEQ.ID. n°7 ou 9 comme amorce 5', et SEQ.ID. n°10 comme amorce  
15 3', de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 et 10, ou leurs séquences complémentaires, et

b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène  
20 *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences n° 11 à 39 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du genre ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

Plus particulièrement dans cette seconde variante:

25 - à l'étape a) on réalise les étapes comprenant :

1- une première amplification de l'acide nucléique dudit échantillon avec un couple d'amorces 5' et 3' choisi parmi des oligonucléotides comprenant respectivement les séquences SEQ.ID. n° 7 et respectivement SEQ.ID. n° 10 ou leurs séquences complémentaires, et on détermine l'apparition ou l'absence d'un  
30 produit d'amplification à l'étape 1, et

2- une réaction de séquençage des amplifiats déterminés à l'étape 1 avec les amorces 5' et 3' consistant dans des oligonucléotides comprenant les séquences SEQ.ID. n° 9 et respectivement SEQ.ID. n°10, de préférence



consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 ou leurs séquences complémentaires, de préférence consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ou leurs séquences complémentaires, et

- à l'étape b), on compare les séquences obtenues avec respectivement l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 ou leurs séquences complémentaires.

Un autre objet de la présente invention est un gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ.ID. n° 11 à 29 et 30 à 39.

- Un autre objet de la présente invention est la séquence complète du gène *rpoB* des bactéries *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae*, et *Staphylococcus intermedius* telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6, comme mentionné précédemment ces fragments de gènes *rpoB* et gènes complets sont utiles notamment pour un procédé selon l'invention.

La séquence complète du gène *rpoB* peut être utilisée pour identifier la bactérie pas seulement par l'étude de sa séquence primaire, mais aussi, par l'étude des structures secondaire et tertiaire de l'ARN messager provenant de la transcription de la séquence complète d'ADN.

- Un autre objet de la présente invention est un dit fragment de gène *rpoB* ou oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence consistant dans les séquences SEQ ID n° 11 à 39 et parmi les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires tels que définis ci-dessus.

- Un autre objet de la présente invention est un oligonucléotide comprenant une séquence d'au moins 12, de préférence de 12 à 35, motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires, de préférence consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 7 et 10 et les séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles N représente l'inosine.

Les séquences SEQ ID n° 7 à 39 peuvent être préparées par synthèse chimique en utilisant les techniques bien connues de l'homme du métier et décrites par exemple dans l'article de Itakura K. et al. [(1984) Annu. Rev. Biochem. 53 :323].

5 Une première application d'un oligonucléotide selon l'invention est son utilisation comme sonde pour la détection, dans un échantillon biologique, de bactéries de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* qui comprend une séquence nucléotidique d'au moins 12 motifs nucléotidiques consécutifs incluse dans l'une des séquences SEQ ID n° 7 à 39, et leurs séquences inverses ou  
10 complémentaires.

Une sonde comprenant les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10 sera utilisée à titre de sonde de genre et une sonde comprenant l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 sera utilisée à titre de sonde d'espèce.

Les sondes selon l'invention peuvent être utilisées, à des fins de  
15 diagnostic, comme mentionné précédemment, par la détermination de la formation ou de l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre la sonde et un acide nucléique cible dans un échantillon, selon toutes les techniques d'hybridation connues et notamment les techniques de dépôt  
20 ponctuel sur filtre, dites « DOT-BLOT » [Maniatis et al. (1982) Molecular Cloning, Cold Spring Harbor], les techniques de transfert d'ADN dites « SOUTHERN BLOT » [Southern E.M., J. Mol. Biol. (1975) 98 :503], les techniques de transfert d'ARN dites « NORTHERN BLOT », ou les techniques dites « sandwich », en particulier avec une sonde de capture et/ou une sonde de détection, lesdites  
25 sondes étant capables de s'hybrider avec deux régions différentes de l'acide nucléique cible, et l'une au moins desdites sondes (généralement la sonde de détection) étant capable de s'hybrider avec une région de la cible qui est spécifique de l'espèce, étant entendu que la sonde de capture et al sonde de détection doivent avoir des séquences nucléotidiques au moins partiellement différentes.

30 L'acide nucléique à détecter (cible) peut être de l'ADN ou de l'ARN (le premier obtenu après amplification par PCR). Dans le cas de la détection d'une cible de type acide nucléique double brin, il convient de procéder à la dénaturation de ce dernier avant la mise en oeuvre du procédé de détection.

L'acide nucléique cible peut être obtenu par extraction selon les méthodes connues des acides nucléiques d'un échantillon à examiner. La dénaturation d'un acide nucléique double brin peut être effectuée par les méthodes connues de dénaturation chimique, physique ou enzymatique, et en particulier par  
5 chauffage à une température appropriée, supérieure à 80°C.

Pour mettre en œuvre les techniques d'hybridation précitées, et en particulier les techniques « sandwich », une sonde de l'invention, appelée sonde de capture est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde de l'invention, appelée sonde de détection, est marquée avec un agent marqueur.  
10 Les exemples de support et d'agent marqueur sont tels que définis précédemment.

De manière avantageuse, une sonde d'espèce est immobilisée sur un support solide, et une autre sonde d'espèce est marquée par un agent marqueur.

15 Une autre application d'un oligonucléotide de l'invention est son utilisation comme amorce nucléotidique comprenant un oligonucléotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence d'au moins 12 motifs nucléotidiques incluses dans l'une des séquences SEQ ID n° 7 à 39, qui est utilisable dans la synthèse d'un acide nucléique en présence d'une polymérase  
20 par un procédé connu en soi, notamment dans des méthodes d'amplification utilisant une telle synthèse en présence d'une polymérase (PCR, RT-PCR, etc.). En particulier, une amorce de l'invention peut être utilisée pour la transcription inverse spécifique d'une séquence d'ARN messenger de bactérie d'une espèce du genre *Staphylococcus* pour obtenir une séquence d'ADN complémentaire  
25 correspondante. Une telle transcription inverse peut constituer le premier stade de la technique RT-PCR, le stade suivant étant l'amplification par PCR de l'ADN complémentaire obtenu. On peut également utiliser les amorces de l'invention pour l'amplification spécifique par réaction de polymérisation en chaîne de la séquence totale de l'ADN du gène *rpoB* d'une espèce du genre *Staphylococcus*.

30 Selon un cas particulier ladite amorce comprenant un oligonucléotide de l'invention comprend en outre la séquence sens ou anti-sens d'un promoteur reconnu par une ARN polymérase (promoteurs T7, T3, SP6 par exemple [Studier FW, BA Moffatt (1986) J. Mol. Biol. 189 :113] : de telles amorces sont

utilisables dans des procédés d'amplification d'acide nucléique faisant intervenir une étape de transcription, tels que, par exemple, les techniques NASBA ou 3SR [Van Gemen B. et al. Abstract MA 1091, 7<sup>th</sup> International Conference on AIDS (1991) Florence, Italy].

5 Un autre objet de l'invention est une amorce nucléotidique comprenant un oligonucéotide monocaténaire choisi parmi les oligonucléotides ayant une séquence comprenant l'une des séquences SEQ ID n° 11 à 29 et 31 à 39, ou de préférence, consistant dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 qui est utilisable pour le séquençage total ou partiel du gène *rpoB* d'une souche  
10 quelconque d'une espèce du genre *Staphylococcus*.

Le séquençage du gène *rpoB* partiel ou complet chez toute bactérie du genre *Staphylococcus* permet l'identification de toute bactérie *Staphylococcus* par analyse bioinformatique de cette séquence et la reconnaissance de nouvelles espèces de bactéries *Staphylococcus* inconnues.

15 De préférence, dans une utilisation comme amorce ou pour le séquençage des gènes *rpoB* on utilise les séquences SEQ ID n°7 à SEQ ID n°10, dans lesquelles N est l'inosine de préférence, les séquences SEQ ID n°7 et SEQ.ID. n° 10.

La présente invention a également pour objet une trousse de diagnostic  
20 utile dans un procédé selon l'invention comprenant au moins un dit fragment de gène dudit oligonucléotide consistant dans les séquences SEQ.ID. n° 7 à 39 et les séquences inverses et séquences complémentaires ou un dit oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, et/ou au moins un dit fragment de gène *rpoB* d'une dite bactérie comprenant les  
25 séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, et les oligonucléotides et fragments de gènes de séquences inverses et séquences complémentaires, tels que définis ci-dessus.

Dans la présente description, on entend par "séquences inverses et séquences complémentaires" les séquences suivantes :

- la séquence inverse de ladite séquence,
- 30 - la séquence complémentaire de ladite séquence, et
- la séquence complémentaire de la séquence inverse de ladite séquence.

Enfin, un dernier objet de l'invention est une sonde de thérapie génique pour traiter les infections provoquées par une souche appartenant à une espèce

du genre *Staphylococcus*, ladite sonde comprenant un oligonucléotide tel que défini précédemment. Cette sonde de thérapie génique, capable de s'hybrider sur l'ARN messager et/ou sur l'ADN génomique desdites bactéries, peut bloquer les phénomènes de traduction et/ou transcription et/ou de réplication.

5 Le principe des méthodes de thérapie génique est connu et repose notamment sur l'utilisation d'une sonde correspondant à un brin anti-sens : la formation d'un hybride entre la sonde et le brin sens est capable de perturber au moins l'une des étapes du décryptage de l'information génétique. Les sondes de thérapie génique sont donc utilisables comme médicaments antibactériens, 10 permettant de lutter contre les infections causées par les bactéries des espèces du genre *Staphylococcus*.

L'invention sera mieux comprise à l'aide de l'exposé ci-après, divisé en exemples, qui concernent des expériences effectuées dans le but de réaliser l'invention et qui sont données à titre purement illustratif.

15 La figure 1 représente la visualisation des produits d'amplification par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel d'agarose obtenu à l'exemple 3.

Exemple 1. Séquence du gène *rpoB* de quatre espèces du genre 20 *Staphylococcus* : *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae* et *Staphylococcus intermedius*.

La séquence complète du gène *rpoB* des bactéries des espèces *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus* 25 *caprae* et *Staphylococcus intermedius* a été déterminée par amplification enzymatique et séquençage automatique direct utilisant des amorces consensus entre les séquences du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus* (GenBank n° d'accès X64172) *Bacillus subtilis* (GenBank n° d'accès L43593). Cette dernière espèce bactérienne a été choisie comme l'espèce Gram-positive de bas contenu 30 en guanosine plus cytosine la plus proche des espèces du genre *Staphylococcus* (proximité phylogénétique basée sur la comparaison des séquences du gène 16S rADN).



Plusieurs amorces consensus potentielles ont fait l'objet d'investigations pour obtenir un fragment susceptible de conduire à la séquence complète de gènes *rpoB* par élongations successives à partir d'une série d'amorces spécifiques.

5 Ces amorces consensus ont les séquences suivantes :

SEQ ID n°1 : 5'-AAA CTT AAT AGA AAT TCA AAC TAA A -3'

SEQ ID n°2 : 5'-ATC TGG TAA AGC ATT ACC AA - 3'

et ont permis d'obtenir un premier fragment F1 d'une longueur de 1.007 paires de bases chez ces quatre espèces. A partir de l'alignement de la séquence de  
10 ce premier fragment F1 sur les séquences de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, un grand nombre de tentatives avec des amorces théoriquement ou potentiellement appropriées ont échoué et finalement une succession d'amorces oligonucléotidiques a été déterminée pour permettre d'amplifier et de séquencer  
15 par étapes successives la totalité du gène *rpoB* chez les quatre espèces *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae* et *Staphylococcus intermedius*. La séquence, la position relative à la séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus aureus* dans GenBank (numéro d'accès X64172) et la température d'hybridation de ces amorces sont présentées dans le tableau suivant :

| Amorce | Sequence de l'amorce (5' - 3') | Position  | Tm (°C) |
|--------|--------------------------------|-----------|---------|
| 30 F   | GGTTTAGGATTAAAAGATGC           | 30-50     | 41      |
| 192 F  | GAAGAAGTTGGAGCTACTG            | 192-211   | 44      |
| 806 F  | AATAAGAGCAGGGAAAGAAAC          | 806-827   | 43      |
| 920 F  | AAAGAAAAGAATGAATGAACCTT        | 920-942   | 39      |
| 1165 F | TATGCTTATGGTATTTAGCTA          | 1165-1186 | 39      |
| 1302 F | AACTTAATAGAAATTCAAACCTAAA      | 1302-1327 | 58      |
| 1450 F | GTTCAAACGATAAATAGAGAA          | 1450-1471 | 39      |
| 1741 F | GAAACAGATGCTAAAGATGT           | 1741-1761 | 41      |
| 1850 F | CCATATACTGCGAGTGGGAA           | 1850-1870 | 47      |
| 2245 F | TAGAAATTCAATCAATTAAGTATATG     | 2245-2271 | 62      |
| 2309 F | TTGGTAATGCTTTACCAGAT           | 2309-2329 | 41      |
| 2334 F | TGCATTACACCAGCAGATATCATTG      | 2334-2359 | 70      |

|        |                            |           |    |
|--------|----------------------------|-----------|----|
| 2412 F | GATGATATTGACCATTTAGG       | 2412-243  | 41 |
| 2534 F | TGAAAGAATGTCAATTCAAGA      | 2534-2555 | 39 |
| 2663 F | AAACCCATTAGCTGAGTT         | 2663-268  | 38 |
| 2995 F | TGGTCGTTTCATGGATGATGAAGTTG | 2995-3119 | 74 |
| 2924 F | AAGATAGCTATGTTGTAGCA       | 2924-2944 | 41 |
| 3200 F | CTTAGAGAACGATGACTCTAA      | 3200-3221 | 43 |
| 3498 F | TAGTTGGTTTCATGACTTGGA      | 3498-3520 | 46 |
| 3550 F | TTGAAAGTCCAACAAAGCAA       | 3550-3570 | 38 |
| 3843 F | GGTAAAGTAACGCCTAAAGGT      | 3843-3864 | 45 |
| 4494 F | TGGAGGTATGGGCACTTGAA       | 4494-4514 | 47 |

Les amplifications ont été réalisées sous un volume final de 50 µl comprenant 2,5 x 10<sup>-2</sup> U de *Taq* polymérase, 1 X de tampon de *Taq* et 1,8 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de dATP, dTTP, dGTP, dCTP et 0,2 µM de chaque amorce. Elles ont été réalisées suivant le programme suivant : 35 cycles comportant une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation des amorces à 52°C pendant 30 secondes et extension à 72°C pendant 60 secondes. Les produits d'amplification ont été purifiés sur colonne puis séquencés à l'aide des amorces oligonucléotidiques de séquençage présentées dans le tableau suivant :

10

|        |                            |           |    |
|--------|----------------------------|-----------|----|
| 1759R  | ACATCTTTAGCATCTGTTTC       | 1779-1759 | 48 |
| 1460 R | ATCGTTTGAACGCCACTCTT       | 1480-1460 | 45 |
| 1910 R | TCATAGTAAGTTTGCGCCAT       | 1930-1910 | 43 |
| 2309 R | ATCTGGTAAAGCATTACCAA       | 2329-2309 | 41 |
| 2334 R | CAATGATATCTGCTGGTGTAATGCA  | 2354-2334 | 68 |
| 2432 R | CCTAAATGGTCAATATCATC       | 2452-2432 | 41 |
| 2573 R | CGAATATTAATTAATTGTTG       | 2593-2573 | 34 |
| 2892 R | GTGATAGCATGTGTATCTAAATCA   | 2912-2892 | 64 |
| 2915 R | TAACATCTTCTTCATCAGC        | 2935-2915 | 41 |
| 2924 R | TGCTACAACATAGCTATCTT       | 2944-2924 | 41 |
| 2995 R | CAACTTCATCATCCATGAAACGACCA | 3015-2995 | 74 |
| Cm32b  | ATGCAACGTCAGGCCGTTCCG      | 3211-3191 | 64 |

|        |                        |           |    |
|--------|------------------------|-----------|----|
| 3321 R | AGACGACGAACAGAATTTCA   | 3341-3321 | 56 |
| 3610 R | GCTCGAATGATAACGTGATT   | 3630-3610 | 43 |
| 4139R  | ACTTGTCCAATGTTTCATACG  | 4159-4139 | 44 |
| 4502 R | CATATGCTTCAAGTGCCCATA  | 4523-4502 | 45 |
| 4508 R | CCAAGTGGTTGTTGTGTAAC   | 2428-4508 | 45 |
| 4871 R | TTTAGAGCTTTCACTGTTTG   | 4891-4871 | 41 |
| 5000 R | CACCATATGACCAAGAACGAA  | 5021-5000 | 45 |
| 5018 R | CAATCAAGGAGCCTACCTCCTT | 5040-5018 | 50 |
| 5030 R | GAAATTATTTACATCAATCAA  | 5051-5030 | 36 |
| 5041 R | TAACATCTTCTTCATCAGC    | 5061-5041 | 41 |
| 5085 R | CCCAGTCTTTTGTAGGTCCG   | 5105-5085 | 49 |
| 5188 R | CCCATTCTTTCACGACGTAC   | 5208-5188 | 47 |

Les réactions de séquençage ont été réalisées en utilisant les réactifs du kit ABI Prism dRhodamine Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystems) selon les recommandations du fournisseur

5 suivant le programme suivant : 30 cycles comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 10 sec., une étape d'hybridation de l'amorce à 50°C pendant 10 sec. et une étape d'extension à 60°C pendant 2 minutes. Les produits de séquençage ont été séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide sur un séquenceur 377 DNA Sequencer (Perkin) et analysés pour former des

10 séquences consensus par le logiciel Sequence Assembler (Applied Biosystems). Cette approche nous a permis de déterminer la séquence complète du gène *rpoB* chez quatre espèces du genre *Staphylococcus* :

SEQ ID N°3: Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus*

15 *saccharolyticus*. Cette séquence mesure 3.791 paires de bases et possède un contenu en cytosine plus guanosine de 36,8% est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank accession AF325871.

5'ATGAAACTTAATAGAAATTCAAACCTAAATCTTATGATTGGTTCCTTAAAGAA  
GGGTTATTAGAAATGTTTAGAGACATTTACCAATTGAAGATTTACAGGCA  
20 ACCTATCTTTAGAATTTGTAGATTATAGATTAGGTGAACCAAATTATGATTTA

GAAGAATCTAAAAATCGTGACGCTACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTCAAAG  
TACGTCTCATTATTAAAGAAACAGGCGAAGTAAAAGAACAAGAAGTCTTCAT  
GGGTGATTTCCCATTAATGACAGACACAGGTACATTTGTTATCAATGGTGCT  
GAGCGTGTTATCGTGTCTCAATTAGTACGTTCCACCATCTGTTTATTTCAACG  
5 AAAAAATTGATAAAAACGGTCGTGAAAATTATGATGCGACTATTATTCCTAAC  
CGTGGTGCTTGGTTAGAATATGAAACAGATGCTAAAGATGTCGTTTATGTTT  
GTATCGATAGAACACGTAAATTACCATTAACTGTATTGTTACGTGCGCTAGG  
TTTCTCAACTGATCAAGAAATCGTTGATTTAATAGGAGACAGTGAATATTTAC  
GTAATACATTAGAAAAAGATGGAACCTGAAAATACAGAACAAGCTTTATTAGA  
10 AATTTATGAACGTTTGCGTCCTGGCGAACCACCAACAGTAGAAAATGCTAAA  
AGCTTATTATATTCACGTTTCTTCGATCCTAAACGCTATGATTTAGCAAGTGT  
AGGTCGTTATAAAGCTAACAAAAAGTTACATTTAAACACCGTTTATTTAATC  
AAAAACTAGCAGAACCAATTGTTAATAGTGAAACAGGTGAGATTGTAGCGGA  
AGAAGGTACTGTACTTGATCGTCGTAAACTAGATGAAATCATGGACGTATTG  
15 GAGACAAACGCTAATAGCGAAGTCTTTGAACTTGAAGGTAGTGTCATTGATG  
AACCAGTAGAAATTCAATCAATTAAAGTATATGTTCCCTAATGATGAAGAAGGT  
CGAACTACTACTGTTATTGGTAATGCATTACCAGACTCAGAAGTTAAATGTAT  
TACTCCGGCTGATATTATCGCCTCAATGAGTTACTTCTTTAACTTATTGAATG  
GAATTGGTTATACAGATGATATTGACCACTTAGGTAATCGTCGTTTACGTTT  
20 AGTTGGTGAATTACTACAAAAACCAATTCGGTATCGGTTT(SEQIDN°7)GTCTA  
GAATGGAACGTGTTGTACGTGAGAGAATGTCAATTCAAGACACTGATTCTAT  
CACTCCACAACAATTAATTAATATTCGTCCAGTCATTGCATCTATTAAAGAAT  
TTTTTGGTAGTTCTCAATTATCTCAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)AAAC  
CCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTTTATCAGCTCTAGGACCTGGT  
25 GGTTTAACTCGTGAACGCGCTCAAATGGAAGTACGTGACGTGCATTATTCT  
CACTACGGTCGTATGTGCCCTATTGAAACACCTGAGGGCCCAAACATTGG  
ATTAATTAACCTCATTATCTAGTTATGCAAGAGTAAATGAATTTGGTTTTATT  
GAAACACCTTATCGTAAAGTTGATTTAGATACTAATTCAATCACTGACCAA  
ATTGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCACAAGCA  
30 AACTCACGTCTTGATGAAAATGGGTGCTTCTTAGATGATGAAGTTGTTTGT  
CGTTTTTCGTGGCAATAACACAGTGATGGCTAAAGAAAAAATGGACTATAT  
GGACGTATCACCTAAACAAGTAGTTTCAGCAGCTACTGCATGTATCCCATT  
CTTAGAAAACGATGACTCAAACCGAGCATTAAATGGGTGCAAACATGCAAC



**GTCAAGCAGTACCATTAATGAACCCAGAAGCGCCATTTGTTGGAACAGGT**  
**ATGGAACATGTAGC(SEQIDN°10)AGCGCGTGACTCAGGTGCAGCAATTACT**  
GCTAAGCATAGAGGACGTGTTGAACATGTTGAGTCTAATGAAGTTTTAGTTC  
GTCGTTTAGTAGAAGAAAATGGTATTGAACATGAAGGTGAATTAGATCGCTA  
5 TCCATTAGCAAAATTCAAACGTTCAAACCTCTGGTACATGTTATAACCAACGC  
CCAATTGTTTCTGTTGGAGACGTTGTTGAATATAACGAAATTTTAGCAGACG  
GTCCTTCAATGGAACCTAGGTGAAATGGCTTTAGGTGCGTAACGTAGTTGTAG  
**GTTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)TTATAACTATGAGGATGCCGTTATC**  
ATGAGCGAACGTTTAGTTAAAGATGATGTCTATACATCTATTCATATCGAAGA  
10 ATACGAATCAGAAGCACGTGACACTAAATTAGGACCTGAAGAAATTACTCGT  
GATATTCCTAATGTGTCTGAAAGTGCGCTTAAAAACTTAGACGATCGTGGTA  
TCGTTTATGTTGGTGCCGAAGTTAAAGATGGTGACATCTTAGTAGGCAAAGT  
AACGCCTAAAGGTGTAACGGAACCTAACAGCAGAAGAAAGATTATTACATGCT  
ATTTTCGGTGAAAAGGCTCGTGAAGTTCGTGATACTTCATTACGTGTACCAC  
15 ATGGTGCAGGGGGGCATCGTATTAGATGTAAAAGTCTTCAACCGTGAAGAGG  
GCGATGACACTTTATCTCCTGGTGTAATCAATTAGTACGTGTTTATATCGTT  
CAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGATAAAATGTGCGGTCGTCATGGTAATA  
AAGGTGTTATTTCTAAAATTGTTCCCTGAAGAAGATATGCCATACTTACCTGAT  
GGTCGACCAATCGACATCATGTTAAATCCACTTGGTGTAACCTTCACGTATGA  
20 ACATTGGACAAGTGCTAGAATTACACTTAGGTATGGCTGCTAAAAACTTAGG  
CATCCACATTGCATCACCAGTATTTGATGGTGCTAATGATGATGATGTTTGG  
TCTACAATCGAAGAGGCCGGCATGGCACGTGATGGTAAGACTGTATTATAT  
GATGGGCGTACGGGTGAACCGTTTGATAACCGTATTTCTGTAGGTGTAATG  
TACATGCTTAAACTTGCTCACATGGTTGATGACAAATTGCATGCACGTTCAA  
25 CAGGACCATACTCACTCGTTACACAACAACCACTCGGTGGTAAAGCACAATT  
TGGTGGACAACGTTTCGGTGAGATGGAGGTATGGGCACTTGAAGCATATGG  
TGCTGCTTATACTTTACAAGAAATCTTAACTTATAAATCTGACGATACAGTAG  
GACGTGTTAAACTTACGAATCTATCGTTAAAGGTGAAAACATCTCTAGACC  
AAGTGTTCCCTGAGTCATTCCGAGTACTGATGAAAGAATTACAAAGTTTAGGA  
30 TTAGATGTTAAAGTAATGGATGAGCATGATAATGAAATTGAAATGGCAGATG  
TTGATGATGAAGATGCAACGGAACGCAAAGTAGATTTACAACAAAAAATGC  
TCCGGAATCACAAAAAGAAACAACCTGATTAATAAGCACTTAAGATAAATGAA  
TACTTAAAGGGTATGAAATGATTATCATTTCAACTTCTTTAGGTATTTCGATTT



CAATGAAAGTAATCAATCAAATAGCACAGCTAATCTAAATTGAAGGAGGTTAG  
GCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGAAAATAGGATTAGCTTCA  
CCTGAAAAGATTTCGTTCTTGGTCATATGGTGAAGTTAAGAAACCTGAAACAA  
TAAACTATCGTACTTTAAAGCCAGAAAAAGATGGTCTTTTCTGTGAAAGAATT  
5 TTCGGACCTACAAAAGACTGGGAAATTTTAA-3'

SEQ ID N°4 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus lugdunensis*

Cette séquence mesure 3.855 paires de bases et possède un contenu en  
cytosine plus guanosine de 36,4% est déposée dans GenBank sous le numéro  
10 GenBank accession AF325870.

5'ATGTCTTATGATTGGTTCCTAAAAGAAGGTTTACTAGAAATGTTCCGTGAT  
ATCTCACCAATTGAAGATTTACAGGTAACCTATCATTAGAGTTTGTAGATT  
CAGATTAGGTGAACCAAAGTATGATTTAGAAGAATCGAAAAATCGTGACGCT  
ACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTTAAAGTGCGTCTCGTTATAAAAGAAACAG  
15 GTGAAGTTAAAGAGCAAGAAGTATTTATGGGAGACTTCCCATTAATGACAGA  
TACAGGTACGTTTGTTATTAATGGTGCAGAGCGTGTTATTGTATCGCAATTA  
GTACGTTACCATCCGTTTACTTTAATGAAAAAATTGACAAAAACGGACGAG  
AAAATTATGATGCTACAATCATTCTAACCCTGGTGCCTGGTTAGAATACGA  
AACAGATGCTAAAGATGTTGTCTATGTTTCGTATTGATAGAACTCGTAAATTG  
20 CCATTAAGTGTCTTATTACGCGCATTAGGCTTTTCAACTGATCAAGAAATTGT  
TGAGTTGTTAGGCGATAACGAATACTTGCGTAATACATTAGAAAAAGACGGA  
ACAGAAAACACTGAACAAGCGTTATTAGAAATTTATGAACGTTTACGTCCTG  
GTGAACCACCAACAGTTGAAAATGCAAAAAGTTTATTATATTCTCGCTTCTTC  
GATCCGAAACGCTATGATTTAGCAAGCGTTGGACGTTATAAAGCGAACAAAA  
25 AATTGCATCTAAAACACCGTTTATTTAATCAAAAATTAGCAGAGCCTATCGTA  
AACAGCGAAACAGGTGAAATTGTTGCTGAAGAAGGTACTGTATTAGATCGTC  
GCAAATTAGACGAAATTATGGACGTTCTTGAAACAAATGCGAATAGTGAAGT  
ATTCGAATTAGAAGGAACAGTAATAGACGAACCGGTTGAAATTCAATCAATC  
AAAGTCTATGTACCAAATGATGAAGAAGGTTGTACAACAACGATAATTGGTA  
30 ATGCTTTACCAGATTCAGAAGTGAAATGTATCACACCTGCAGATATTATTTCT  
TCTATGAGTTACTTCTTCAACTTATTAGCTGGCATTGGTTACACGGATGATAT  
CGATCATTTAGGTAACCGTCGTTTACGTTTCAGTTGGTGAGTTATTGCAAAAC  
CAATTCCGTATTGGTTT(SEQ ID N°7)ATCAAGAATGGAACGTGTTGTGCGT

GAAAGAATGTCAATTCAAGATACCGAATCTATCACACCACAACAATTAATTAA  
TATTAGACCAGTTATTGCATCAATTAAAGAATTCTTTGGTAGTTCTCAATTAT  
CACAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)TAACCCATTAGCAGAATTAACACA  
CAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACCTGGTGGTTTAAACACGTGAACGTG  
5 CACAAATGGAAGTTCGTGACGTGCATTATTCTCACTATGGCCGTATGTGTC  
CGATTGAAACACCAGAGGGTCCAAACATTGGTTTGATTAACTCATTATCTA  
GTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGCTTTATTGAAACGCCTTATCGTAAAG  
TAGATATTGATACAAATGCAATCACAGATCAAATTGACTACTTAACTGCTG  
ATGAAGAAGACAGTTATGTGCGTTGCACAAGCGAACTCTCGCCTTGATGAA  
10 AATGGTCGTTTCTTAGATGATGAAGTAGTATGCCGTTTCCGCGGTAATAAT  
ACTGTTATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGATGTATCTCCTAAACAA  
GTTGTTTCAGCTGCGACAGCATGTATTCCATTCTTAGAGAACGATGACTCT  
AACCGTGCATTGATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAGCAGTTCCGTTGAT  
GAACCCTGAAGCGCCGTTTCGTAGGAACAGGTATGGAGCATGTTGC(SEQID  
15 N°10)TGCTCGTGACTCTGGTGCTGCGATTACTGCAAATACAGAGGTCGTGT  
AGAACACGTTGAATCTAATGAAATCCTAGTGCGTCGATTAATTGAAGAAAAT  
GGAAAAGAATATGAAGGCGAACTTGATCGCTATCCATTAGCGAAGTTTAAAC  
GCTCTAACTCTGGTACATGTTATAACCAACGTCCAATTGTTTCTATTGGCGA  
CGTTGTAGAATACAATGAAATTCTAGCTGACGGTCCATCAATGGAGCTTGGT  
20 GAAATGGCATTAGGCCGCAACGTTGTAGTTGGTTTCATGACTTGGGACGG(  
SEQIDN°8)CTATAACTATGAAGATGCTGTCATCATGAGTGAACGTTTAGTCAA  
AGATGACGTTTACACATCTATTCATATTGAAGAATATGAATCAGAAGCACGT  
GATACGAAATTAGGACCTGAGGAAATCACACGTGATATTCCTAACGTCTCTG  
AAAGTGCACTTAAAACTTAGACGATCGCGGTATTGTTTATGTAGGTGCAGA  
25 AGTTAAAGATGGCGATATTTTAGTAGGTAAAGTAACGCCTAAAGGTGTCACA  
GAGCTAACAGCTGAAGAACGTCTATTACATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCAC  
GTGAAGTGCGTGACACTTCATTGCGTGTACCACATGGTGCTGGCGGTATTG  
TGCTAGATGTTAAAGTCTTCAACCGTGAAGAAGGAGATGACACACTTTCTCC  
AGGTGTTAACCAATTAGTACGCGTATATATTGTGCAGAAACGTAAAATACAC  
30 GTTGGGGACAAAATGTGTGGTCGTCATGGTAACAAAGGTGTCATTTCTAAG  
ATTGTTCCAGAAGAGGACATGCCTTATTTACCAGATGGACGTCCAATTGATA  
TTATGTTAAACCCACTTGGTGTGCCATCACGTATGAACATTGGACAAGTTCT  
AGAGTTGCATTTAGGTATGGCTGCTAAAACTTAGGTATTCATGTTGCGTCA

CCAGTATTTGATGGTGCGAACGATGAAGATGTATGGTCAACAATTGAAGAA  
GCTGGTATGGCACGTGACGGTAAAACCGTATTATATGATGGCCGTACAGGT  
GAGCCATTCGACAACCGTATCTCAGTTGGAGTTATGTACATGCTTAACTTG  
CACATATGGTTGATGACAAATTACATGCTCGTTCAACAGGTCCATACTCATT  
5 AGTTACACAACAACCACTTGGTGGTAAAGCACAATTTGGTGGACAACGTTTC  
GGTGAGATGGAAGTATGGGCACCTTGAAGCTTATGGTGCTGCCTATACATTG  
CAAGAAATCCTTACTTATAAATCTGATGATACGGTAGGCCGTGTTAAACAT  
ACGAAGCTATCGTTAAAGGTGAAAACATTTCTAGACCAAGTGTTCCCTGAATC  
ATTCCGTGTATTGATGAAAGAACTTCAAAGTTTAGGTTTAGATGTGAAAGTG  
10 ATGGATGAGCACGATAACGAAATCGAAATGGCAGATGTTGAAGATGAAGAT  
ACAACAGAGCGCAAAGTAGATTTGCAACAAAAAGATGCGCCACAATCTCAA  
CAAGAAGAACTGCTGATTAGTCAATATATTAGATATAAGGAATGGTGTTAG  
GAACAAGTGCTACGGATGTTTAAACATAATGTGTTTTGAGTTGCATCCATCC  
TAACCTTTCCTTAATTTCAATAGATGTAAATCAATCAAATGGCACAGCTAATC  
15 TAAATTGAAGGAGGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGA  
AAATCGGTTTAGCCTCACCTGAAAAAATTCGTTTCATGGTCATATGGTGAAGT  
GAAAAAACCAGAAACAATTAATTATCGTACGTTAAAACCAGAAAAAGATGGC  
TTATTCTGTGAGAGAATATTCGGCCCACTAAAGATTGGGAATGTAGTTGTG  
GTAAATACAAACGTGTGCGTTATAAAGGCATGGTTTGTGATAGATGTGGTGT  
20 TGTA – 3'

SEQ ID N°5 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus caprae*

Cette séquence mesure 3.698 paires de bases et possède un contenu en  
cytosine plus guanosine de 37,4% est déposée dans GenBank sous le numéro  
25 GenBank accession AF325868.

5'ATGAACTTAATAGAAATTCAACTAAATCTTACGATTGGTTCCTTAAAGAA  
GGTTTATTAGAAATGTTTAGAGACATTTCTCCAATTGAAGATTTACAGGTAA  
CCTATCTTTAGAATTTGTAGATTATAGATTAGGTGATCCGAAATACGATTTAG  
AAGAATCTAAAAACCGTGACGCTACTTATGCTGCACCTCTTCGTGTGAAAGT  
30 ACGTCTCATTATTAAAGAAACAGGCGAAGTGAAGGAACAAGAAGTCTTCATG  
GGTGATTTCCCATTAATGACTGACACAGGTACATTCGTTATCAATGGTGCTG  
AACGTGTTATCGTTTCTCAATTAGTACGTTACCATCCGTTTATTTCAACGAG  
AAAATTGATAAAAATGGACGCGAAACTACGATGCAACTATCATTCCCTAACC

GTGGTGCTTGGTTAGAATATGAAACAGATGCGAAAGATGTAGTATACGTTTCG  
TATCGATAGAACTCGTAAATTACCATTGACAGTATTATTACGTGCACTAGATT  
TCTCAACTGATCAAGAAATTGTTGATTTACTAGGTGAGAGTGAATATTTACGT  
AATACATTAGAAAAAGATGGTACTGAAAATACTGAACAAGCATTATTAGAAAT  
5 TTATGAACGTTTACGTCCTGGCGAACCACCAACAGTTGAAAATGCTAAAAGC  
TTATTATACTCACGCTTCTTCGACCCTAAACGTTATGATTTAGCAAGTGTTGG  
TCGTTACAAAGCTAACAAAAAGTTACATTTAAAACACCGTTTATTTAATCAA  
AATTAGCAGAACCTATTGTTAATAGTGAAACAGGTGAGATTGTAGCTGAAGA  
AGGTACTGTATTAGATCGTCGTAAAATTGACGAAATCATGGACGTTTTAGAA  
10 ACAAACGCTAACAGTGAAGTTTTCGAATTAGAAGGTAGCGTTATTGACGAAC  
CTGTTGAAATTCAATCAATTAAAGTCTATGTACCTAATGATGAAGAAGGTCTG  
CACAACACTGTAAATTGGTAATGCATTACCAGATTCAGAAGTTAAATGTATTA  
CTCCAGCTGATATCATTGCGTCAATGAGTTATTTCTTCAACTTATTAAATGGT  
ATTGGTTATACAGATGATATCGACCACTTAGGTAACCGTCGTTTACGTTTCAG  
15 TTGGTGAACTTTTACAGAAACCAATTCCGTATCGGTTT(SEQIDN°7)ATCAAG  
AATGGAACGTGTTGTTTCGTGAAAGAATGTCTATTCAAGACACTGATTCAATC  
ACACCACAACAATTAATCAACATTTCGTCCGGTTATTGCGTCTATTAAAGAATT  
CTTCGGAAGTTCACAATTATCGCAATTCATGGACCAAGC(SEQIDN°9)TAAC  
CCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTCTATCAGCATTAGGACCTGGT  
20 GGTTTAACGCGTGAAACGTGCCCAAATGGAAGTGCGTGACGTTCACTATTC  
TCACTATGGCCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACATTG  
GTTTAATCAACTCATTATCAAGTTATGCACGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT  
TGAAACACCTTATCGTAAAGTAGATTTAGATACGAATTCTATCACTGACCA  
AATTGATTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCCCAAGC  
25 GAACTCTCGTTTAGACGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGACGAAGTTGTTTG  
TCGTTTCCGTGGTAATAACACAGTTATGGCTAAAGAGAAAATGGACTACAT  
GGATGTATCTCCTAAACAAGTAGTATCTGCAGCGACAGCTTGTATTCCATT  
CTTAGAAAATGATGACTCTAACCGTGCAATTAATGGGTGCGAACATGCAAC  
GTCAAGCAGTACCATTGATGAATCCAGAAGCGCCATTTGTTGGTACAGGT  
30 ATGGAACATGTAGC(SEQIDN°10)CGCACGTGATTCAGGTGCAGCGATTACT  
GCTAAACATAGAGGACGCGTTGAACACGTTGAATCTAACGAAGTATTAGTAC  
GTCGTTTAGTAGAAGAAAACGGCACTGAACATGAAGGTGAATTAGATCGTTA  
CCCATTAGCTAAATTCAAACGTTCAAACCTCTGGTACATGTTATAACCAACGT



CCAATTGTTTCTGTTGGTGATGTAGTAGAATACAATGAAATTTTAGCTGACG  
GTCCTTCAATGGAATTAAGGTTGAAATGGCATAGGGACGTAACGTTGTTAGT  
TGGTTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)TTATAACTACGAGGATGCTGTTA  
TCATGAGTGAACGTTTAGTTAAAGATGACGTTTATACTTCTATTACATTGAA  
5 GAATATGAATCTGAAGCTCGTGATACTAAGTTAGGACCTGAAGAAATTA  
CTC  
GTGACATTCCTAACGTATCTGAAAGTGCACTTAAAACTTAGACGATCGCGG  
TATCGTTTATGTTGGTGCTGAAGTTAAAGACGGTGACATCTTAGTAGGTAAA  
GTAACGCCTAAAGGTGTAACCTGAATTAACAGCTGAAGAAAGATTATTACATG  
CTATCTTCGGTGAAAAGGCTCGTGAAAGTCCGCGATACATCATTACGTGTAC  
10 CACATGGTGCAGGCGGTATCGTTCTAGATGTTAAAGTATTCAATCGTGAAGA  
AGGCGATGATACGTTATCTCCAGGTGTAAACCAATTGGTACGTGTTTATATC  
GTTCAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGACAAAATGTGTGGTCGTCACGGTA  
ACAAAGGTGTTATCTCTAAAATTGTTCTGAAGAAGATATGCCATACTTACCA  
GATGGTCGTCCAATCGACATCATGTTAAACCCACTTGGTGTACCATCACGTA  
15 TGAACATCGGACAAGTACTTGAGTTGCATTTAGGTATGGCTGCTAAGAACTT  
AGGCATCCATGTAGCATCTCCAGTATTCGATGGTGCAAACGATGATGATGTA  
TGGTCAACAATTGAAGAAGCAGGTATGGCTCGTGATGGTAAAACTGTATTAT  
ACGATGGACGTACAGGTGAACCATTCGATAACCGTATTTCTGTAGGTGTCAT  
GTACATGCTTAAACTTGCTCACATGGTTGACGATAAATTACACGCACGTTCA  
20 ACTGGACCATACTCACTTGTTACACAACAACCACTTGGTGGTAAAGCACAAT  
TCGGTGGTCAACGCTTCGGTGAGATGGAGGTATGGGCACTTGAAGCATATG  
GTGCTGCATACACATTACAAGAAATCTTAACTTATAAATCTGACGATACAGTA  
GGTCGTGTTAAAACTTACGAATCTATCGTTAAAGGTGAAAATATCTCTAGAC  
CAAGTGTTCCAGAATCATTACAGAGTATTGATGAAAGAATTACAAAGTTTAGG  
25 ATTAGATGTTAAAGTGATGGACGAGCAAGACAACGAAATTGAAATGGCGGA  
CGTTGATGATGAAGATGCAACTGAACGCAAAGTAGATTTACAACAAAAAAT  
GCTCCCGAATCACAAAAAGAAACAACCTGATTAATAAGCACTTAAGATAAATG  
AATCCTAAAGAGGTTATGAGATGGTTGCCATTTCAACCTCTTTAAGGTATTC  
GATTTCAATGAATGTAAATCAATCAAATAGCACAGCTAATCTAAATTGAAGGA  
30 GGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAATTTCCATTATATGAAAATAGGATTAG  
CTTCACCTGAAAAAATTCGTTCTTGGTCTTATGGTGAAGTTAA – 3'

SEQ ID N°6 : Séquence du gène *rpoB* de *Staphylococcus intermedius*



Cette séquence mesure 3.851 paires de bases et possède un contenu en cytosine plus guanosine de 39,2%, elle est déposée dans GenBank sous le numéro GenBank accession AF325869).

5'ATGTAAACTTAATAGAAATTCMAACTAAATCGTATGATTGGTTCTTAAAAGA  
5 AGGTTTATTAGAAATGTTCCGTGATATTTCTCCTATTGAAGACTTCACGGGTA  
ATCTTTCATTAGAATTTGTTGATTATAGATTAGGTGAACCAAAGTATGATTTA  
GAAGAATCAAAAAACCGTGATGCAACATACGCGGCACCATTACGTGTGAAA  
GTTTCGTTTAATCATTAAAGAAACAGGCGAAGTGAAAGATCAAGAAGTATTTA  
TGGGTGATTTCCCATTAATGACAGAAACAGGTACTTTTGTGATTAAACGGGGC  
10 AGAACGTGTTATCGTATCACAATTAGTCCGTTCACCATCTGTATACTTCAATG  
AAAAATTAGATAAAAACGGATGCGTGAATTATGATGCGACAGTCATTCCTAA  
CCGTGGTGCTTGGTTGGAATATGAAACAGATGCGAAAGATGTCGTTTATGT  
GCGTATCGATAGAACGAGAAAGTTACCATTAACAGTATTATTACGTGCGTTA  
GGTTATTCAACAGACCAAGAAATTATTGAATTAATTGGGGATAATGAATATTT  
15 ACGTAATACATTAGAAAAAGATAGCACAGAAAATACAGAGCAAGCATTACTT  
GAAATTTATGAACGTTTACGTCCAGGTGAACCACCTACTGTAGAAAACGCAA  
AAAGCTTATTATACTCACGTTTCTTTGACCCTAAACGTTATGATTTAGCAAGC  
GTTGGACGTTATAAAGCAAACAAAAAGTTACATTTAAACACCGCCTATTCA  
ATCAAAAATTAGCTGAACCGATCGTTAATACTGAAACAGGCGAAATTGTTGC  
20 TGAAGAAGGCACTGTTTTAGATCGTCGTAAATTAGATGAAATTATGGACGTT  
CTTGAAACAAATGCGAATGCACAAGTTTATGAACATTCCAAACGGATCATTG  
ATGAGCCAGTAGAAATTCAATCAATTAAAGTATATGTACCGAATGATGATGA  
AGAACGTACAACAACAGTTATTGGTAATGCATTCCCAGATTCCAGAAGTGAAA  
TGTATTACACCGGCTGATATTGTGGCATCTATGTCATACTTCTTCAACCTATT  
25 ACATGGTATTGGTTACACAGACGATATTGACCACCTTGGTAACCGCCGTCTA  
CGTTCAGTTGGTGAGTTGTTACAAAAACCAATTCCGTATCGGTTT(SEQIDN°7)  
ATCAAGAATGGAACGTGTGGTACGTGAAAGAATGTCTATTCAAGATACAGAC  
TCTATCACACCGCAACAATTAATTAATATTCGTCCAGTGATTGCATCAATTAA  
AGAGTTCTTTGGTAGCTCGCAATTATCTCAATTCATGGACCAAGC(SEQ ID  
30 N°9)GAACCCACTTGCTGAGTTGACTCACAAACGTCGTCTATCAGCATTAGG  
ACCTGGTGGTTTAACGCGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTGCGTGACGTAC  
ACTACTCTCACTATGGTCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCA  
AACATTGGTTTGATCAACTCATTATCTAGTTATGCACGTGTGAACGAATTT

GGTTTTATCGAAACACCATATCGTAAAGTTGATATTGAAACAAATACGATT  
ACTGACCAAATCGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTC  
GCACAAGCGAACTCACGTCTTGATGAAAACGGTCGCTTTATTGATGATGA  
GATTGTATGTCGTTTCCGTGGTAACAACACAACGATGGCGAAAGAAAAAA  
5 TGGACTACATGGACGTATCGCCGAAACAAGTTGTATCAGCTGCGACAGCG  
TGTATCCCATTTCTTAGAAAACGATGACTCTAACCGTGCGTTAATGGGTGCG  
AACATGCAGCGTCAAGCGGTACCGTTGTTAAACCCTGAATCTCCATTTGTA  
GGTACAGGTATGGAACACGTTGC(SEQIDN°10)TGCACGTGACTCAGGTGCT  
GCTGTCATTTCTAAATATCGCGGTGCTGTTGAACATGTCCAATCTAGCGAGA  
10 TTTTAGTCCGTCGTTTAGTTGAAGAAAACGGTCAAGAAGTAGATGGTACGTT  
AGATCGTTATCCATTAGCGAAATTTAAACGTTTCGAACTCAGGTACATGTTATA  
ACCAACGTCCAATCATCGCAAAGGTGACATTGTGGAAAAAGGCGAAATCC  
TTGCTGATGGTCCTTCAATGGAACCTGGTGAAATGGCATTAGGTCAGAAAC  
GTAGTAGTTGGTTCATGACTTGGGACGG(SEQIDN°8)TTATAACTATGAGGAT  
15 GCCGTTATCATGAGTGAACGTTTGGTTAAAGATGATGTGTACACGTCTATTC  
ATATTGAAGAATACGAATCAGAAGCGCGTGACACAAAACCTTGGACCTGAAG  
AAATCACACGTGATATTCCTAACGTATCTGAAAATGCACTGAAAAACTTAGAT  
GATCGCGGTATCGTTTATGTAGGTGCGGAAGTTAAAGACGGCGACATCTTA  
GTGGGTAAAGTAACGCCAAAAGGTGTAACAGAATTAAGTGCAGAAGAACGT  
20 TTATTACATGCAATCTTTGGTGAAAAAGCACGTGAAGTACGTGATACATCAT  
TACGTGTACCTCACGGCGCGGGCGGTATTGTACTTGATGTTAAAGTGTTCA  
ATCGTGAAGAAGGCGATGATTCACCTTACCAGGTGTGAACCAACTCGTAC  
GTGTTTACATTGTTCAAAAACGTAAAATTCATGTAGGGGACAAAATGTGTGG  
TCGTCACGGTAACAAAGGTGTCATCTCTAAAATTGTTCTGAAGAAGACATG  
25 CCGTACTTACCAGACGGTCGTCCAATCGACATCATGTTGAACCCACTCGGT  
GTACCATCTCGTATGAACATCGGACAAGTTTTAGAGCTCCACTTAGGTATGG  
CAGCTAAAAACTTAGGTATCCACGTTGCATCACCAGTATTCGATGGTGCGAA  
CGATGATGACGTATGGTCTACAATTGAAGAAGCAGGTATGGCACGTGATGG  
TAAAACGTGCCTTTACGATGGACGTACAGGTGAACCATTCGACAACCGTATC  
30 TCTGTAGGTGTCATGTACATGCTGAAACTTGCACACATGGTTGATGACAAGC  
TTCACGCACGTTCTACAGGACCTTACTCACTTGTTACACAACAACCGCTTGG  
TGGTAAAGCACAGTTTGGTGGACAAAGATTTGGTGAGATGGAGGTATGGGC  
ACTTGAAGCATACGGTGCAGCATACACATTACAAGAAATCCTCACATACAAA

TCAGATGACACAGTAGGTCGTGTGAAAACCTTACGAAGCTATCGTTAAAGGT  
 GAAAACATCTCAAGACCAAGTGTTCCCTGAATCATTCCGCGTATTGATGAAAG  
 AATTACAAAGTTTAGGTCTTGACGTTAAAGTGATGGACGAACAAGATAACGA  
 AATTGAAATGCGTGACTTAGACGATGATGATATTCCAGATCGCAAAGTCAAC  
 5 ATTCAACCATCAACTGTTCCCTGAATCACAAAAAGAATTTAACGAATAATGATG  
 AATTGTAGATAAGATTAAACGGAATAGAAACACTTGGTTAAGCTTGAGTTTG  
 TGTTCAAATGTGACAGTTGAAATACAACAGATGTCATGTACGATTAATCTATT  
 CGGAAATGTGATCGGAATCCAACGAGAGGGCTTGGGTTTCGATGCATATCC  
 GATACTGCAACATTTTTTAAGATAAATTGTAAATCAATCAACTAGCACAGTTAA  
 10 TTAAACTAAAGGAGGTAGGCTCCTTGATTGATGTAAATAAATTCCATTACAT  
 GAAAATAGGACTCGCTTCACCTGAAAAAATTCGTTCTTGGTCATATGGTGAG  
 GTCAAAAAGCCAGAAACAATTAATACTACCGTACGTTAAAACCAGAAAAAGATG  
 GTAA – 3'

Cette séquence mesure 3.852 paires de bases et possède un contenu en  
 15 cytosine plus guanosine de 39,2%, elle est déposée dans GenBank sous le  
 numéro GenBank accession AF325869.

Exemple 2 : Séquençage partiel du gène *rpoB* de 26 espèces du genre  
*Staphylococcus*.

20

L'alignement de la séquence *rpoB* déterminée chez les bactéries des  
 espèces *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* (GenBank  
 accession AF325870), *Staphylococcus intermedius* (GenBank accession  
 AF325869), *Staphylococcus saccharolyticus* (GenBank accession AF325871) et  
 25 *Staphylococcus caprae* (GenBank accession AF325868) a permis de déterminer  
 les séquences consensus des oligonucléotides suivants positionnés  
 respectivement en position 2491-2511 et 3554-3573 du gène *rpoB* chez  
*Staphylococcus aureus* :

- SEQ ID n°7 : 5'- AACCAATTCCGTATNGGTTT - 3' (où N  
 30 représente l'inosine)

- SEQ ID n°8 = 5'- CCGTCCCAAGTCATGAAAC - 3'

déterminant théoriquement l'amplification d'un fragment de 1.063 paires de  
 bases chez toute espèce du genre *Staphylococcus*.

SEQ.ID. n°8 est utilisée à titre d'amorce 3' et représente donc la séquence inverse complémentaire du brin direct représenté dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6 en position 3554-3573 chez *Staphylococcus aureus*.

Les inventeurs ont déterminé la position de ces deux amorces SEQ.ID. n° 7 et SEQ.ID. n° 8, de façon à respecter les critères suivants :

- 1- séquence encadrée par ces deux amorces spécifiques de l'espèce de la bactérie. Cette condition est vérifiée après alignement des fragments de 1063 pb avec l'ensemble des séquences des gènes bactériens *rpoB* disponibles dans les banques de données informatiques.
- 2- recherche d'une région d'identification la plus courte possible afin d'augmenter le plus possible la sensibilité de la détection moléculaire
- 3- recherche d'une région proche de celle préalablement travaillée par les inventeurs dans le monde des entérobactéries [Mollet C. (1997) Mol. Microbiol., 26 :1005-11] afin de tendre vers une zone de travail commune à ces deux genre et famille bactériens.
- 4- la longueur des amorces de 18 à 22 pb,
- 5- séquence des amorces présentant une température de fusion voisine,
- 6- séquence des amorces ne permettant pas d'auto-hybridation ni de complémentarité.

L'analyse in silico laissait prévoir que ces deux oligonucléotides SEQ ID n°7 et SEQ ID n°8 devaient permettre l'amplification par procédé PCR un fragment de 1.063 paires de bases du gène *rpoB* chez toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. En réalité, l'amorce de la séquence SEQ.ID. n° 8 n'accrochait par sur une espèce rare et pour des raisons indéterminées. En effet, les expériences réalisées au laboratoire ont montré que l'espèce du genre : *Staphylococcus schleiferi* n'était pas amplifié par cette paires d'amorces oligonucléotidiques, montrant le caractère aléatoire des prédictions réalisées sur les amorces. Les inventeurs ont donc par tâtonnement déterminé un nouvel oligonucléotide de séquence SEQ ID n°10 positionné en position 3241-3261 dans *Staphylococcus aureus*, qui combiné avec l'oligonucléotide SEQ ID n°7 dans une réaction d'amplification PCR, a effectivement permis d'obtenir un amplicon du gène *rpoB* d'une taille de 771 paires de bases (taille pour l'espèce



de référence *Staphylococcus aureus*) chez les 29 espèces du genre *Staphylococcus* testées par les inventeurs.

SEQ ID n°10 = 5'- GCIACITGITCCATACCTGT - 3'

SEQ.ID. n° 10 est utilisée à titre d'amorce 3'. C'est pourquoi elle correspond à la séquence inverse complémentaire des séquences du brin direct représenté sur les séquences SEQ.ID. n°3 à 6.

Ce produit d'amplification est ensuite séquencé par incorporation de deux amorces de séquençage SEQ ID n°9 (localisée en position 2643-2660 du gène *rpoB* dans les bactéries de l'espèce *Staphylococcus aureus*) et SEQ ID n°10 :

SEQ ID n° 9 = 5'- CAA TTC ATG GAC CAA GC - 3',

Cette dernière amorce a été déterminée pour respecter les contraintes d'une amorce de séquençage, c'est à dire d'une taille supérieure à 15 mères, ne s'hybridant pas avec la deuxième amorce utilisée pour le séquençage, et encadrant une zone d'en général environ 500 paires de bases dont la séquence est spécifique de chaque espèce dans le genre *Staphylococcus*.

En utilisant ce second jeu d'oligonucléotides de séquences SEQ ID n°9 / SEQ ID n°10, les inventeurs ont donc finalement pu déterminer la séquence partielle du gène *rpoB* chez 29 espèces du genre *Staphylococcus* présentées ci-après (SEQ ID n° 11 à SEQ ID n°39).

Le fragment du gène *rpoB* a été amplifié par la technique PCR utilisant 35 cycles d'amplification comportant chacun une phase de dénaturation de 94°C pendant 10 secondes, une phase d'hybridation des amorces SEQ ID n° 7 et 8 ou SEQ ID n°7 et 10 à 52°C pendant 20 secondes et une phase d'élongation à 72°C pendant 60 secondes. Le produit d'amplification est visualisé après coloration par le bromure d'éthidium.

Les bactéries représentant ces 29 espèces du genre *Staphylococcus* sont les suivantes :

| Espèce  | Numéro d'accès GenBank   | Reference               |
|---|--------------------------|-------------------------|
| <i>Staphylococcus caprae</i>                          | AF325868 (SEQ.ID. n°39)  | CIP 104000 <sup>1</sup> |
| <i>Staphylococcus gallinarum</i>                      | AF325890 (SEQ.ID. n° 27) | CIP 103504 <sup>1</sup> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> | AF325894 (SEQ.ID. n°37)  | CIP 103780 <sup>1</sup> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>     | X64172 (SEQ.ID. n°36)    | CIP 103428              |



|  |                          |                          |
|--|--------------------------|--------------------------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>                            | AF325872 (SEQ.ID. n°30)  | CIP 81.55 <sup>T</sup>   |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i>                           | AF325888 (SEQ.ID. n°26)  | CIP 81.56 <sup>T</sup>   |
| <i>Staphylococcus intermedius</i>                            | AF325869 (SEQ.ID. n°23)  | CIP 81.60 <sup>T</sup>   |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i>                            | AF325870 (SEQ.ID. n° 20) | CIP 103642 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus saccharolyticus</i>                        | AF325871 (SEQ.ID. n°17)  | CIP 103275 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus schleiferi</i><br>subsp. <i>schleiferi</i> | AF325886 (SEQ.ID. n°15)  | CIP 103643 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus xylosus</i>                                | AF325883 (SEQ.ID. n°11)  | CIP 81.66 <sup>T</sup>   |
| <i>Staphylococcus capitis</i> subs. <i>capitis</i>           | AF325885 (SEQ.ID. n°34)  | ATCC 27840 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus arlettae</i>                               | AF325874 (SEQ.ID. n°38)  | ATCC 43957 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus warneri</i>                                | AF325887 (SEQ.ID. n°12°) | ATCC 27836 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus hominis</i>                                | AF325875 (SEQ.ID. n°25)  | ATCC 27844 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus simulans</i>                               | AF325877 (SEQ.ID. n°13)  | ATCC 27848 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i>                          | AF325873 (SEQ.ID. n°16)  | ATCC 15305 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus equorum</i>                                | AF325882 (SEQ.ID. n°29)  | ATCC 43958 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>Cohnii</i>            | AF325893 (SEQ.ID. n°31)  | ATCC 29974 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus auricularis</i>                            | AF325889 (SEQ.ID. n°35)  | ATCC 33753 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus carnosus</i> subsp.<br><i>Carnosus</i>     | AF325880 (SEQ.ID. n°33)  | ATCC 51365 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus kloosii</i>                                | AF325891 (SEQ.ID. n°22)  | ATCC 43959 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i>                            | AF325892 (SEQ.ID. n°32)  | ATCC 43764 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus hyicus</i> subs. <i>hyicus</i>             | AF325876 (SEQ.ID. n°24)  | ATCC 11249 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus pulveris</i>                               | AF325879 (SEQ.ID. n°18)  | CCUG 33938 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus muscae</i>                                 | AF325884 (SEQ.ID. n°19)  | CIP 1035641 <sup>T</sup> |
| <i>Staphylococcus lentus</i>                                 | AF036973 (SEQ.ID. n°21)  | ATCC 49574               |
| <i>Staphylococcus felis</i>                                  | AF325878 (SEQ.ID. n°28)  | CIP 103366 <sup>T</sup>  |
| <i>Staphylococcus sciuri</i>                                 | AF325881 (SEQ.ID. n°14)  | ATCC 29062 <sup>T</sup>  |

ATCC, collection American Tissue Culture Collection ; CIP : Collection de l'Institut Pasteur collection ; <sup>T</sup>, souche type.

Les fragments d'en général environ 500 paires de bases du gène *rpoB* des bactéries des espèces du genre *Staphylococcus* dont la séquence est  
5 spécifique de chaque espèce de ce genre et permettant donc l'identification moléculaire des bactéries des 29 espèces testées sont :

SEQ ID N°11 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus xylosus*, mesurant 518 paires de bases :

5' TTCAGGGTTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATCAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCATTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTGCGCAGCA  
GAAACAACCTTGTTTTGGTGAAACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCATCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTGGCTTGTGCTACCACATAACTATCCTCTTC  
ATCAGCTGTTAAGTAATCGATTTGCTCAGTAATGCTGTTTGTTTCAAGGTCTA  
10 CTTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTCACACGTGCATAACTA  
GACAATGAGTTGATAAGTCCAATGTTTGGACCTTCAGGCGTTTCGATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAGAGCAGATAAACGACGTTTGT – 3'

15 SEQ ID N°12 : Séquence partielle du gène *rpoB* *Staphylococcus warneri* mesurant 507 paires de bases :

5' TTCAGGATTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACAAGCTGTAGCGGCT  
GAAACAACCTGCTTAGGTGAAACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
20 TACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAACTACTTCGTCATCTATGAAACGT  
CCGTTTTTCATCTAAACGTGAATTCGCTTGGGCAACAACATAACTATCTTCTTC  
GTCAGCAGTTAAATAATCAATTTGGTCTGTAATCGCATTAGTGTCTAAATCCA  
CTTTACGATATGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCGTTTACACGTGCATAACTA  
GATAATGAGTTGATTAATCCAATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCAATTGGAC  
25 ACATACGACCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGTACCTCCATTTGTGCACG  
TTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAAAGCAGATAA – 3'

SEQ ID N°13 : Séquence partielle du gène *rpoB* *Staphylococcus simulans*, mesurant 518 paires de bases :

30 5' TTCAGGGTTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCTGTGCGCTGC  
AGATACAACCTTGTTTAGGAGAAACGTCCATATAGTCCATTTCTCTCTATCCA  
TAGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGATTTCTTCGTCTAAGAAACG

ACCTTCGTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGCGCAACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCTGCAGTAAGGTAATCGATTTGATCTGTTACCGCATTTTTCTCATGGT  
CAACTTTACGATATGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAACACGCGCATAA  
CTTGATAATGAGTTGATTAAACCGATGTTCCGGACCCTCTGGTGTCTCGATTG  
5 GACACATACGGCCATAGTGAGAGTAATGCACGTCACGTACTIONTCCATTTGTG  
CACGTTACGCTGTTAAACCACCAGGTCCAAGTGCAGATAGACGACGTTTAT  
– 3'

SEQ ID N°14 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus sciuri*,  
10 mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTCATTAAAGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTCTGCTGCA  
GAAACAACCTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATGCGTTCTTTAGGTT  
TAGTAGTGTTGTCCCCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCATCAACGAATTT  
15 ACCTGTTTCATCAAGTACAGAGTTTGCTTGTGCAACTACATAGCTGTCTTCTT  
CGTCAGCTGTTAAGTAGTCGATTCTGTCTAGTAACCTTGGTTTGTCTCGATGTT  
TACCTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAACCTTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGCGTTTCAATTGG  
ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTACTIONTCCATACCAGC  
20 ACGCTCACGAGTTAAACCACCCGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°15 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus schleiferi*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTAAACAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
25 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAAAACGGAATACATGCTGTCTGCAGCT  
GAAACAACCTTGTTTAGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTCATCGATAAAACGT  
CCGTTTTTCATCAAGTCTTGAGTTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTCTT  
CATCAGCAGTAAGGTAATCAATACGGTCTGTAATTGTGTTTGTTCAGGTC  
30 TACTTTTCTGTATGGAGTTTCAATGAAACCAAATTCATTCACACGTGCATAAC  
TTGAAAGTGAGTTGATCAAACCAATGTTTGGACCCTCTGGTGTCTCGATTGG  
ACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGAACTTCCATTTGTGCA  
CGTTCACGCTGTTAAACCACCAGGCCCTAAAGCTGATAAACGACGTTTGT- 3'

SEQ ID N°16 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus saprophyticus*, mesurant 518 paires de bases.

5' TTCTGGATTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCTGCA  
5 GAAACAACCTTGTTTAGGTGAGACATCCATATAATCCATTTTTCTTTGGCCAT  
AACTGTATTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCGTCTGCTATGAAACGG  
CCATTTTCGTCTAATGTTGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
ATCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCCGTGATTGAATTCGTTTCAAGATCCA  
CTTTACGGTAAGGTGTTTCAATAAAGCCGAATTCATTTACACGCGCATAACT  
10 AGATAACGAGTTAATAAGTCCGATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCAATTGGA  
CACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTA CTTCATTTGAGCA  
CGTTCACGCGTTAAACCACCAGGTCCTAGAGCTGATAAACGACGTTTAT – 3'

SEQ ID N°17 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus saccharolyticus*, mesurant 556 paires de bases :

5' AAACCCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTTTATCAGCTCTAGGACC  
TGGTGGTTTAACTCGTGAACGCGCTCAAATGGAAGTACGTGACGTGCATTA  
TTCTCACTACGGTCGTATGTGCCCTATTGAAACACCTGAGGGCCCAAACATT  
GGATTAATTAACCTCATTATCTAGTTATGCAAGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT  
20 TGAAACACCTTATCGTAAAGTTGATTTAGATACTAATTCAATCACTGACCAAA  
TTGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCACAAGCAAA  
CTCACGTCTTGATGAAAATGGGTGCTTCTTAGATGATGAAGTTGTTTGTCTG  
TTTCGTGGCAATAACACAGTGATGGCTAAAGAAAAAATGGACTATATGGACG  
TATCACCTAAACAAGTAGTTTCAGCAGCTACTGCATGTATCCCATTCTTAGA  
25 AAACGATGACTCAAACCGAGCATTAAATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAGC  
AGTACCATTAATGAACCCAGAAGCGCCATTTGTTGGA – 3'

SEQ ID N°18 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus pulveris*, mesurant 508 paires de bases :

30 5' TTCAGGATTCATTAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCAGC  
AGAAACAACCTGTTTAGGTGATACATCCATGTAATCCATACGTTCTTTAGGTT  
TCGTAGTATTATCCCCACGGAAACGACAAAGTACTTCATCATCAACGAATTT



ACCTGTTTCATCAAGTACTGAGTTTGCTTGCGCTACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCAGCTGTTAAATAGTCAATTCTGTCAGTAACTTGGTTTGTTTCGATATT  
AACCTTACGATAAGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTA ACTCTCGCATAAC  
TTGATAAAGAGTTAATTAAACCGATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGG  
5 ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATACCAGCA  
CGTTCACGAAGTTAAACCGCCGGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°19 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus muscae*,  
mesurant 518 paires de bases :

10 5'TTCAGGATTCAACAATGGCACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCGCAGC  
AGAAACA ACTTGCTTCGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTCTCTTTTGCC  
ATTGTTGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACAATCTCATCATCAATAAAGC  
GACCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGTGCAACCACATAACTATCTTCT  
15 TCATCAGCAGTTAAATAGTCGATTTGATCAGTGATTGTGTTCTCGATAT  
CAACTTTACGATATGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAAACACGTGCATAA  
CTAGATAGTGAGTTGATCAAACCAATGTTTCAGTCCCTCTGGTGTCTCAATCG  
GACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAAGGTCACGCACTTCCATTTGTG  
CACGTTACGTGTCAAACCACCAGGCCCTAATGCTGAAAGACGACGCTTAT  
20 – 3'

SEQ ID N°20 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus  
lugdunensis*, mesurant 556 paires de bases :

25 5'TAACCCATTAGCAGAATTAACACACAAACGTCGTTTATCTGCGTTAGGACC  
TGGTGGTTTAACACGTGAACGTGCACAAATGGAAGTTCGTGACGTGCATTA  
TTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCGATTGAAACACCAGAGGGTCCAAACATT  
GGTTTGATTA ACTCATTATCTAGTTATGCGCGTGTCAACGAGTTTGGCTTTAT  
TGAAACGCCTTATCGTAAAGTAGATATTGATACAAATGCAATCACAGATCAA  
ATTGACTACTTA ACTGCTGATGAAGAAGACAGTTATGTCGTTGCACAAGCGA  
30 ACTCTCGCCTTGATGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGATGAAGTAGTATGCCG  
TTTCCGCGGTAATAATACTGTTATGGCTAAAGAAAAAATGGACTACATGGAT  
GTATCTCCTAAACAAGTTGTTTCAGCTGCGACAGCATGTATTCCATTCTTAG



AGAACGATGACTCTAACCGTGCATTGATGGGTGCAAACATGCAACGTCAAG  
CAGTTCCGTTGATGAACCCTGAAGCGCCGTTTCGTAGGA– 3'

SEQ ID N°21 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus lentus*,  
mesurant 507 paires de bases :

5'TTCAGGGTTCATTAAAGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCAAGGAAAGGAATACATGCTGATGGTGC  
AGAAACAACCTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAATCCATACGTTCTTTAGGTT  
TAGTAGTGTTGTCACCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCGTCGACGAATCT  
10 ACCAGTTTCATCTAATACTGAGTTTGCTTGTGCAACAACATAACTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAGATAATCAATTCTGTCTGTTACTTGGTTAGTTTCGATATTA  
ACTTTACGATATGGTGTTCATAAAGCCAAACTCGTTAACTCTAGCATAACT  
TGAAAGTGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTCTCAATCGGA  
CACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATACCAGCA  
15 CGTTCACGAGTTAAACCGCCGGGTCCAAGCGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°22 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus kloosii*,  
mesurant 505 paires de bases :

5'TTCACGGTTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
20 GGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTGCGCAGC  
CGAAACAACCTTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTTCGCCA  
TAACTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAACTACTTCATCATCTAAGAAACG  
ACCATTTTCATCTAATTTAGAGTTAGCTTGCGCTACCACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCTGTGATTGAATTAGTTTCTAAATCA  
25 ACTTTACGGTATGGTGTTCGATAAAGCCAAATTCATTAACACGTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATAAGTCCAATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCGATTGG  
ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCAC  
: GTTCACGAGTTAAACCACCAGGTCCAAGCCAGATAG – 3'  
.

30 SEQ ID N°23 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus intermedius*, mesurant 556 paires de bases :

5'GAACCCACTTGCTGAGTTGACTCACAAACGTGCTCTATCAGCATTAGGAC  
CTGGTGGTTTAACGCGTGAACGTGCTCAAATGGAAGTGCGTGACGTACACT

ACTCTCACTATGGTCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACAT  
TGGTTTGATCAACTCATTATCTAGTTATGCACGTGTGAACGAATTTGGTTTTA  
TCGAAACACCATATCGTAAAGTTGATATTGAAACAAATACGATTACTGACCA  
AATCGACTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTCGCACAAGCG  
5 AACTCACGTCTTGATGAAAACGGTCGCTTTATTGATGATGAGATTGTATGTC  
GTTTCCGTGGTAACAACACAACGATGGCGAAAGAAAAAATGGACTACATGG  
ACGTATCGCCGAAACAAGTTGTATCAGCTGCGACAGCGTGTATCCCATTCTT  
AGAAAACGATGACTCTAACCGTGCGTTAATGGGTGCGAACATGCAGCGTCA  
AGCGGTACCGTTGTTAAACCCTGAATCTCCATTTGTAGGT – 3'

10

SEQ ID N°24 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus hyicus*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'CTCTGGGTTCAATAAAGGCACGGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTA  
ATGCACGGTTTCGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCTGTCGCCG  
15 CAGAAACAACCTTGTTTCGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCC  
ATTGTTGTATTGTTCCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTCTCGATAAAGC  
GTCCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTC  
TTCATCCGCAGTTAAGTAATCAATTTGATCTGTTATTGTATTTCGTTTCAAGGT  
CCACTTTACGGTAAGGCGTTTCAATGAAACCAAATTCGTTAACACGCGCATA  
20 ACTTGAAAGTGAGTTGATTAATCCAATGTTTGGACCCTCTGGCGTTTCGATT  
GGACACATACGACCGTAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGG  
GCACGTTACGCGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGATAAACGACGTTTG  
G – 3'

25 SEQ ID N°25 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus hominis*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCAGGATTCATCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCAAGGAATGGAATACAAGCTGTCGCTGC  
TGATACTACTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTTGCCA  
30 TAACAGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACCACTTCATCATCTAGGAAACG  
ACCATTTTCATCTAAACGAGAATTGGCTTGTGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAATAATCAATTTGATCAGTAATCGAATTGGTATCAATATCT  
ACTTTACGATATGGTGTTTCGATAAAACCAAATTCATTTACACGTGCATAACT

AGATAATGAGTTAATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTCATTGGA  
CACATACGACCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGAACTTCCATTTGTGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAAAGCAGAAAGACGACGTTTAG – 3'

- 5 SEQ ID N°26 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus haemolyticus*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGTGTTTCATCAATGGTACTGCTGACGTTGCATGTTTGCACCCATTAAT  
GCACGGTTAGAGTCATCATTTCCTAAGGAAAGGAATACATGCTGTCGCAGCT  
GAACTACTTGTTTAGGAGATACGTCCATGTAGTCCATTTCTCTTTAGCCAT  
10 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACATACGACTTCATCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCATCTAAGCGAGAGTTGCTTGGGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAGTAGTCGATTTGATCTGTAATAGAGTTAGTGTCTAAGTC  
TACTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTCACACGTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTAATCAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGAGTCTCGATCGG  
15 ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGAAAG – 3'

SEQ ID N°27 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus gallinarum*, mesurant 507 paires de bases :

20 5'TTCAGGATTCATCAAAGGTACAGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTCGCAGCA  
GATACAACCTGTTTAGGTGATACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTTGCCAT  
TACAGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACGACTTCATCTTCTACGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATACAGAGTTTGCTTGTGCTACTACATAACTGTCTTCTTC  
25 ATCAGCTGTTAAGTAGTCAATTTGATCTGTAATAGATTGTGTTTCAATATCAA  
CTTTACGATATGGTGTTCATGAAACCAAATTCATTTACACGCGCATAACTT  
GATAATGAGTTGATAAGTCCGATGTTTGGACCCTCAGGTGTTTCGATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°28 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus felis*, mesurant 518 paires de bases :

5'TTCGGGATTCATTAAAGGTACAGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACATGCCGTCGCAGC  
AGAAACGACTTGCTTAGGCGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTGGCC  
ATCGTTGTATTGTTTCCGCGGAAACGACATACAATCTCGTCATCCAAGAAAC  
GGCCTTCTTCGTCTAATCGTGCGTTTGCTTGTGCAACAACATAACTATCTTC  
TTCATCAGCTGTAAGATAGTCAATTTGGTCTGTAATTTTATTTGTCTCAAGAT  
10 CGACTTTACGATATGGTGTTTCGATAAATCCAAATTCGTTAACACGTGCATA  
ACTTGATAATGAGTTGATTAATCCGATGTTTCGGCCCCTCTGGCGTTTCAATA  
GGACACATGCGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATCTGT  
GCACGTTCTCTCGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCGGATAGACGACGTTTAT  
– 3'

15 SEQ ID N°29 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus equorum*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCAGGATTCATCAATGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATCAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCTGTTCGCAGCA  
GAAACAACCTTGTTTAGGTGAAACATCCATGTAGTCCATTTTTCTTTAGCCAT  
20 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCGTCTTCTACGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATACAGAGTTTGCTTGAGCTACTACATAGCTGTCTTCTTC  
GTCAGCTGTTAAGTAGTCAATTTGGTCTGTGATTGAATGTGTTTCAAGATCT  
ACTTTACGGTAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTACACGCGCATAAC  
TAGATAGTGAGTTGATAAGTCCGATATTCGGACCCTCTGGTGTTTCGATTGG  
25 ACACATACGACCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCGCCGGGTCCTAATGCTGATAA – 3'

SEQ ID N°30 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus epidermidis*, mesurant 518 paires de bases :

30 5'TTCAGGATTCATTAAAGGCACCGCTTGACGTTGCATGTTTGTCTCCCATTA  
CGCACGGTTAGAGTCGTCATTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTTGCTGCT  
GAAACAACCTTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AACAGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCATCATCTAAGAAACGA

CCATTTTCATCAAGTCTAGAATTAGCCTGTGCAACAACGTAGCTATCCTCTT  
CATCAGCTGTCAAATAATCTATTTGATCAGTGATTGAGTTTGTATCTAAATCC  
ACTTTACGATATGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTCACTCTAGCATAACT  
TGACAATGAGTTTATTAAACCAATATTAGGACCCTCAGGTGTTTCAATTGGA  
5 CACATACGCCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAATCCACCAGGCCCTAGAGCAGATAAACGACGTTTGT – 3'

SEQ ID N°31 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus cohnii*,  
mesurant 507 paires de bases :

10 5'TTCTGGATTCATCAATGGGACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTTGCTGCA  
GAAACAACCTGTTTAGGAGATACATCCATGTAATCCATTTTTCTTTTGCCAT  
AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCATCATCTAAGAAGCGA  
CCATTTTCATCTAACTTAGAATTTGCTTGTGCTACTACATAGCTATCTTCTTC  
15 GTCAGCTGTAAATAATCAATTTGATCTGTGATACTATTCGTTTCAAGATCTA  
CTTTACGATATGGCGTTTCAATGAAACCAAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAAACCAATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTCGATTGGAC  
ACATACGACCGTAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

20

SEQ ID N°32 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus  
chromogenes*, mesurant 507 paires de bases :

5'CTCAGGATTTAACAAGGCACCGCTTGACGTTGGATGTTTCGCACCCATTAA  
ACGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAACGGAATACATGCAGTTGCCG  
25 CAGAAACAACCTTGCTTCGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTAGCC  
ATTGTTGTATTGTTCCACGGAAACGACAAACGATTTTCGTCGTCGATAAAGC  
GTCCATTTTCATCTAAACGTGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTGTCTTC  
TTCGTCCGCAGTTAAATAATCAATTTGATCAGTAATTGCGTTTCGTTTCAAGGT  
CTACTTTACGATACGGCGTTTCAATAAAACCAAATTCATTAACACGCGCATA  
30 ACTTGAAAGTGAGTTGATTAATCCAATATTTGGACCCTCTGGTGTTCGATT  
GGACACATACGACCGTAGTGAGAATAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGA  
GCACGTTACAGTGTTAAACCACCTGGTCCTAAAGCAGATAA – 3'



SEQ ID N°33 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus carnosus*,  
mesurant 1.025 paires de bases :

5'TTCTGGATTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTCGCACCCATTAA  
5 TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGGATACAAGCTGTCGCAGC  
TGATACTACTTGTTTTGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTGTCTCTGTCCA  
TCATTGTGTTGTTACCACGGAAACGACAAACAACCTTCTTCGCTGATGAAGTG  
ACCTTCATCATCTAAACGAGAGTTCGCTTGGGCTACAACATAGCTGTCTTCT  
TCGTCAGCTGTTAGATAGTCGATTTGATCAGTTACAGTATTAGTTTCAAGGT  
10 CAACTTTACGGTATGGTGTTTCAATAAAACCGAACTCGTTAACACGTGCATA  
ACTTGATAATGAGTTGATCAAACCAATGTTTGGACCCTCAGGAGTTTCGATT  
GGACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGA  
GCACGTTACAGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCAGATAATTCTGGATTCA  
TCAATGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAATGCACGGTTAGA  
15 GTCATCATTTTCTAAGAATGGAATACAAGCTGTCGCTGCAGATACTACTTGT  
TTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATTTTCTCTTTAGCCATAACTGTGTTATT  
ACCACGGAAACGACAAACAACCTTCGTCATCTAAGAAACGACCATTTTCGTCT  
AAACGAGAGTTCGCTTGGGCAACAACATAACTATCTTCTTCATCAGCAGTTA  
AGTAATCAATTTGGTCAGTGATAGAATTCGTATCTAAATCTACTTTACGATAA  
20 GGTGTTTCAATAAAACCAAATTCATTTACTCGTGCATAACTTGATAATGAGTT  
GATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCGATTGGACACATACGGCCA  
TAGTGAGAATAGTGAACGTCACGCACTTCCATTTGGGCACGTTACACGCGTT  
AAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTTAT – 3'

25 SEQ ID N°34 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus capitis*,  
mesurant 518 paires de bases :

5'TTCAGTGTTTCATCAATGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTAGCTGCT  
GATACAACCTTGTTTAGGTGATACGTCCATGTAATCCATTTTTCTTTTGCCAT  
30 AACTGTGTTATTACCACGGAAACGACAAACAACCTCGTCATCTAAGAAACGA  
CCATTTTCGTCTAAACGTGAGTTGGCTTGGGCAACTACATAGCTATCTTCTT  
CATCAGCAGTTAAGTAATCGATTTGATCTGTGATAGAGTTCGTATCTAAATCA  
ACTTTACGATACGGTGTCTCGATGAAACCAAATTCATTTACTCGCGCATAAC

TTGATAATGAGTTAATTAAACCAATATTTGGACCCTCTGGTGTTCATTGGA  
CACATACGACCATAGTGTGAGTAATGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGAGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTTTG – 3'

- 5 SEQ ID N°35 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus auricularis*, mesurant 507 paires de bases :

5'TTCTGGGTTTCATTAAAGGTACCGCTTGACGTTGCATGTTTGCACCCATAAG  
CGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCTGCA  
GAAACAACCTTGTTTAGGAGATACATCCATGTAGTCCATGCGTTCTTTAGGTT  
10 TAGTAGTGTTGTCCCCACGGAAACGACAAAGAACTTCATCATCAACGAATTT  
ACCTGTTTCATCAAGTACAGAGTTTGCTTGTGCAACTACATAGCTGTCTTCTT  
CGTCAGCTGTTAAGTAGTCGATTCTGTCAGTAACTTGGTTTGTCTCGATGTT  
TACCTTACGATAAGGTGTTTCAATGAAACCAAATTCATTAACCTTGCATAAC  
TTGATAATGAGTTGATTAAACCAATGTTTGGTCCCTCAGGCGTTTCAATTGG  
15 ACACATACGACCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTACTTCCATACCAGC  
ACGCTCACGAGTTAAACCACCCGGTCCTAATGCTGATAG – 3'

SEQ ID N°36 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus*, mesurant 518 paires de bases :

20 5'TTCTGGATTCATCAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
TGCACGGTTTGAGTCATCATTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTGCTGCT  
GAAACAACCTTGCTTCGGCGATACATCCATATAATCCATTTTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTGTTGTTACCACGGAAACGACATACAACCTTCATCATCCATGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
25 GTCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCAGTGATAGCATGTGTATCTAAATCAA  
CTTTACGATATGGTGTTCATAAAGCCGAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAATCCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAGACGACGTTTAT – 3'

SEQ ID N°37 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus aureus anaerobius*, mesurant 507 paires de bases :

5' TTCTGGATTCATCAAAGGCACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATCAA  
5 TGCACGGTTT GAGTCATCATTTTTCTAAGAATGGAATACATGCTGTCGCTGCT  
GAAACA ACTTGCTTCGGCGATACATCCATATAATCCATTTTTCTTTAGCCAT  
AACTGTATTGTTACCACGGAAACGACATACA ACTTCATCATCCATGAAACGA  
CCATTTTCATCTAATTTAGAGTTTGCTTGTGCTACAACATAGCTATCTTCTTC  
GTCAGCTGTTAAATAGTCAATTTGATCAGTGATAGCATGTGTATCTAAATCAA  
10 CTTTACGATATGGTGTTC AATAAAGCCGAATTCATTTACACGTGCATAACTT  
GATAATGAGTTAATCAATCCAATGTTTGGTCCCTCAGGTGTTTCAATTGGAC  
ACATACGGCCATAGTGAGAGTAGTGAACGTCACGTACTTCCATTTGAGCAC  
GTTACAGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCCGATAG – 3'

15 SEQ ID N°38 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus arlettae*, mesurant 518 paires de bases :

5' TTCACGGTTCATCAACGGTACTGCTTGACGTTGCATGTTTCGCACCCATTAA  
TGCACGGTTAGAGTCATCGTTTTCTAAGAAAGGAATACATGCCGTTGCAGCT  
GAAACTACTTGCTTAGGTGATACGTCCATGTAGTCCATTTTTCTTTAGCCAT  
20 AACTGTGTTATTACCGCGGAAACGACAAACA ACTTCGTCATCTAAAACTTA  
CCATTTTCATCTAAGTTAGAGTTGGCTTGTGCTACCACATAGCTGTCCTCTT  
CATCAGCAGTTAGGTAATCAATTTGATCTGTAATTGAGTTTGTTGCTAAATCT  
ACTTTACGGTACGGCGTTTCGATAAAGCCAAATTCATTTACACGTGCATAAC  
TTGATAGTGAGTTAATTAAACCGATGTTTGGTCCCTCTGGTGTTTCGATAGG  
25 ACACATACGGCCATAGTGAGAATAGTGTACGTCACGTACTTCCATTTGAGCA  
CGTTCACGTGTTAAACCACCAGGTCCTAATGCTGATAAACGACGTTTAT-3'

SEQ ID N°39 : Séquence partielle du gène *rpoB* chez *Staphylococcus caprae*, mesurant 556 paires de bases :

30 5' TAACCCATTAGCTGAGTTGACTCATAAACGTCGTCTATCAGCATTAGGACC  
TGGTGGTTTAACGCGTGAACGTGCCCAAATGGAAGTGCGTGACGTTCACTA  
TTCTCACTATGGCCGTATGTGTCCAATCGAAACACCTGAGGGACCAAACATT  
GGTTTAATCAACTCATTATCAAGTTATGCACGAGTAAATGAATTTGGTTTTAT

TGAAACACCTTATCGTAAAGTAGATTTAGATACGAATTCTATCACTGACCAAA  
 TTGATTACTTAACTGCTGATGAAGAAGATAGTTATGTTGTTGCCCAAGCGAA  
 CTCTCGTTTAGACGAAAATGGTCGTTTCTTAGATGACGAAGTTGTTTGTCTG  
 TTCCGTGGTAATAACACAGTTATGGCTAAAGAGAAAATGGACTACATGGATG  
 5 TATCTCCTAAACAAGTAGTATCTGCAGCGACAGCTTGTATTCCATTCTTAGA  
 AAATGATGACTCTAACCGTGCATTAATGGGTGCGAACATGCAACGTCAAGC  
 AGTACCATTGATGAATCCAGAAGCGCCATTTGTTGGT-3'

Exemple 3. Identification en aveugle d'une collection de 20 souches  
 10 bactériennes comprenant 10 souches de bactéries appartenant au genre  
*Staphylococcus*.

Une collection de vingt souches appartenant aux espèces bactériennes  
 suivantes: *Staphylococcus aureus* (souche sensible à la rifampicine),  
*Staphylococcus aureus* (souche résistante à la rifampicine), *Staphylococcus*  
 15 *epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*,  
*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus*  
*schleiferi*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Escherichia*  
*coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus*  
*faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium amycolatum*, *Gemella*  
 20 *morbilorum*, *Acinetobacter anitratus*, *Micrococcus luteus* et *Propionibacterium*  
*acnes* a été codée de façon à réaliser une identification moléculaire en aveugle  
 (l'expérimentateur ne connaissant pas a priori l'identité des souches) des  
 souches selon le procédé décrit dans la présente demande de brevet.  
 L'extraction des acides nucléiques ainsi que l'amplification du fragment de 751  
 25 paires de bases du gène *rpoB* ont été réalisées comme décrits dans l'exemple  
 n°2 en incorporant les amorces SEQ ID N°7 (comme amorce 5') et SEQ ID N°10  
 (comme amorce 3') dans une amplification PCR (Fig. 1). Le séquençage de ces  
 10 amplifiats a été réalisé en incorporant dans la réaction de séquençage les  
 amorces SEQ ID N°9 (amorce 5') et SEQ ID N°10 (amorce 3') comme décrit  
 30 dans l'exemple n°2 et la comparaison des séquences obtenues avec les  
 séquences de la banque de données des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 a  
 permis d'identifier les dix souches amplifiées comme étant: *Staphylococcus*  
*aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus*

*haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus intermedius*,  
*Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus*  
*lugdunensis* et *Staphylococcus gallinarum*. Le décodage de ces 20 souches a  
montré 100% de concordance entre l'identification moléculaire selon le procédé  
5 faisant l'objet de la présente invention et l'identification établie antérieurement  
par les méthodes phénotypiques standard. Ce résultat illustre la spécificité des  
jeux d'amorces SEQ ID N°7/SEQ ID N°10 et SEQ ID N°9/SEQ ID N°10 utilisés  
pour ce travail et le fait que le niveau de sensibilité des souches de  
*Staphylococcus aureus* à la rifampicine n'interfère pas avec l'identification de ces  
10 souches.

Les autres bactéries choisies pour ce qu'elles sont fréquemment isolées  
dans les prélèvements cliniques humains ou animaux susceptibles de contenir  
également des bactéries du genre *Staphylococcus*, n'ont pas été amplifiées,  
démontrant ainsi la spécificité des amorces utilisées pour le genre  
15 *Staphylococcus* dans les conditions d'utilisation pour la détection des bactéries  
du genre *Staphylococcus* selon l'invention. par rapport aux bactéries d'un autre  
genre.

Sur la figure 1 sont représentés les produits d'amplification PCR obtenus  
à partir de quinze souches bactériennes codées, comportant 10 souches  
20 appartenant au genre *Staphylococcus* (colonnes 2 à 5, 8, 9, 11 à 13 et 16) et 5  
souches bactériennes de genres bactériens autres que *Staphylococcus*  
(colonnes 6, 7, 10, 14 et 15). Les colonnes 1 et 17 représentent le marqueur de  
poids moléculaire. Des colonnes correspondant aux témoins négatifs  
d'amplification (eau stérile) et à d'autres souches autres que *Staphylococcus* ne  
25 sont pas représentées. Les produits d'amplification sont obtenus après  
incorporation des amorces SEQ ID N°7 et SEQ ID N°10 selon l'invention et sont  
visualisés par coloration au bromure d'éthidium après électrophorèse sur un gel  
d'agarose.



## REVENDEICATIONS

1. Gène ou fragment de gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence telle que décrite dans les séquences SEQ.ID. n° 11 à 29 et 31 à 39, les séquences inverses et  
5 séquences complémentaires.
2. Gène *rpoB* d'une des bactéries *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus caprae*, et *Staphylococcus intermedius* selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il correspond à l'une des séquences telles que décrites dans les séquences SEQ.ID. n° 3 à 6.
- 10 3. Fragment d'un gène *rpoB* d'une bactérie du genre *Staphylococcus*, caractérisé en ce qu'il consiste dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 et les séquences inverses et séquences complémentaires.
4. Oligonucléotide caractérisé en ce qu'il comprend une séquence d'au moins 12, de préférence de 12 à 35, motifs nucléotidiques consécutifs  
15 incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, dans lesquelles N représente un nucléotide choisi parmi l'inosine et un mélange équimolaire de 4 nucléotides différents choisis parmi A, T, C ou G, et les oligonucléotides de séquences inverses et séquences complémentaires.
5. Oligonucléotides selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'ils  
20 consistent dans les séquences SEQ.ID. n° 7 à 10, et les séquences inverses et séquences complémentaires dans lesquelles N représente l'inosine.
6. Procédé de détection par identification moléculaire d'une bactérie de l'une des espèces du genre *Staphylococcus* caractérisé en ce qu'on utilise :
- le gène *rpoB* de ladite bactérie, ou un fragment dudit gène selon l'une  
25 des revendications 1 à 3, ou
  - un oligonucléotide selon l'une des revendications 4 ou 5.
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'on utilise :
- un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie selon la revendication 3, ou
  - un oligonucléotide selon la revendication 5.
- 30 8. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :
- 1- on met en contact au moins une sonde de genre comprenant un dit oligonucléotide selon la revendication 4 ou 5, avec un échantillon contenant ou

susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, et

2- on détermine la formation ou l'absence de formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde de genre et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe d'hybridation.

9. Procédé selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes dans lesquelles :

1- on met en contact les amorces d'amplification comprenant desdits oligonucléotides selon la revendication 4 ou 5 avec un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, et avec :

- comme amorce 5', un oligonucléotide choisi parmi les oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 ou les séquences complémentaires, de préférence lesdites séquences complètes, et

- comme amorce 3' un oligonucléotide comprenant une séquence incluse dans l'une des séquences SEQ.ID. n° 10 ou 8, ou respectivement une séquence complémentaire, de préférence lesdites séquences complètes.

2- on réalise une amplification d'acides nucléiques par réaction de polymérisation enzymatique et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et on détermine ainsi la présence de ladite bactérie dans l'échantillon si un produit d'amplification est apparu.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'on utilise :

-- comme amorce 5' : l'une des séquences SEQ.ID. N° 7 ou 9 ou une séquence complémentaire, et

- comme amorce 3' : la séquence SEQ.ID. N° 10 ou respectivement une séquence complémentaire.

11. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'on cherche à détecter spécifiquement une espèce donnée d'une bactérie du groupe *Staphylococcus* choisie parmi les espèces :

*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus*

*saphrophyticus*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*,  
*Staphylococcus muscae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*,  
*Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*,  
*Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus*  
5 *gallinarum*, *Staphylococcus felis*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus*  
*epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus chromogenes*,  
*Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus auricularis*,  
*Staphylococcus aureus subs. aureus*, *Staphylococcus aureus subs. anaerobius*,  
*Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*,

10 procédé dans lequel :

1- on met en contact un échantillon contenant ou susceptible de contenir  
des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie, avec au moins une sonde  
d'espèce consistant dans un fragment de gène selon la revendication 1 ou 3, de  
préférence un oligonucléotide consistant respectivement dans l'une desdites  
15 séquences SEQ.ID. n° 11 à 39, les séquences inverses et séquences  
complémentaires, et

2- on détermine la formation ou l'absence d'un complexe d'hybridation  
entre ladite sonde et les acides nucléiques de l'échantillon, et on détermine ainsi  
la présence de ladite bactérie dans l'échantillon s'il y a formation d'un complexe  
20 d'hybridation.

12. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7 , caractérisé en ce  
qu'on cherche à détecter une espèce donnée d'une bactérie du genre  
*Staphylococcus* choisie parmi les espèces : *Staphylococcus xylosus*,  
*Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus sciuri*,  
25 *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus saphrophyticus*, *Staphylococcus*  
*saccharolyticus*, *Staphylococcus pulveris*, *Staphylococcus muscae*,  
*Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus lentis*, *Staphylococcus kloosii*,  
*Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus hominis*,  
*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus felis*,  
30 *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii*,  
*Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus*  
*capitis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus aureus subs. aureus*,  
*Staphylococcus aureus subs. anaerobius*, *Staphylococcus arlettae*,

*Staphylococcus caprae*, procédé dans lequel, dans un échantillon contenant ou susceptible de contenir des acides nucléiques d'au moins une telle bactérie du genre *Staphylococcus*, on effectue les étapes dans lesquelles :

5 a) on réalise une réaction de séquençage d'un fragment du gène *rpoB* amplifié d'une dite bactérie donnée à l'aide des amorces nucléotidiques consistant dans des oligonucléotides comprenant une séquence incluse dans les séquences SEQ.ID. n°7 ou 9 comme amorce 5' et SEQ.ID.n° 10 comme amorce 3', de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 ou 9 et 10, et lesdites séquences complémentaires, et

10 b) on détermine la présence ou l'absence de l'espèce donnée de ladite bactérie en comparant la séquence dudit fragment obtenu avec la séquence du gène complet *rpoB* de ladite bactérie ou la séquence d'un fragment du gène *rpoB* de ladite bactérie comprenant respectivement lesdites séquences n° 11 à 39 et séquences complémentaires, et on détermine ainsi la présence de ladite  
15 bactérie dans l'échantillon si la séquence du fragment obtenue est identique à la séquence connue du gène ou du fragment de gène *rpoB* de ladite bactérie.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que :

- à l'étape a) on réalise les étapes comprenant :

20 1- une première amplification de l'acide nucléique dudit échantillon avec un couple d'amorces 5' et 3' choisi parmi des oligonucléotides comprenant respectivement les séquences SEQ.ID. n° 7 et respectivement SEQ.ID. n° 10, de préférence consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 7 et 10, ou les séquences complémentaires, et on détermine l'apparition ou l'absence d'un produit d'amplification, et

25 2- une réaction de séquençage des amplifiats déterminés à l'étape 1 avec les amorces 5' et 3' consistant dans des oligonucléotides comprenant les séquences SEQ.ID. n° 9 et respectivement SEQ.ID. n° 10, ou leurs séquences complémentaires, de préférence des oligonucléotides consistant dans lesdites séquences SEQ.ID. n° 9 et 10 ou leurs séquences complémentaires, et

30 - à l'étape b), on compare les séquences obtenues avec respectivement l'une des séquences SEQ.ID. n° 11 à 39 ou leurs séquences complémentaires



14. Trousse de diagnostic utile dans un procédé selon l'une des revendications 6 à 13, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un dit oligonucléotide ou fragment de gène selon l'une des revendications 3 à 5.

1/1

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



## LISTE DE SEQUENCES

<110> Université de la Méditerranée

<120> Identification moléculaire des bactéries du genre  
Staphylococcus

<130> H52437 cas 5

<140>

<141>

<160> 85

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 25

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce  
consensus

<400> 1

aaacttaata gaaattcaaa ctaaa

25

<210> 2

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce  
consensus

<400> 2

atctggtaaa gcattaccaa

20

<210> 3

<211> 3791

<212> ADN

<213> Staphylococcus saccharolyticus

<400> 3

atgaaactta atagaaattc aaactaaatc ttatgattgg ttccttaaag aagggttatt 60  
agaaatgttt agagacattt caccaattga agatttcaca ggcaacctat ctttagaatt 120  
tgtagattat agattaggtg aaccaaatta tgatttagaa gaatctaaaa atcgtgacgc 180  
tacttatgct gcacctcttc gtgtcaaagt acgtctcatt attaaagaaa caggcgaagt 240  
aaaagaacaa gaagtcttca tgggtgattt cccattaatg acagacacag gtacatttgt 300  
tatcaatggg gctgagcgtg ttatcgtgtc tcaattagta cgttcaccat ctgtttattt 360  
caacgaaaaa attgataaaa acggtcgtga aaattatgat gcgactatta ttcctaaccg 420  
tgggtgcttg ttagaatatg aaacagatgc taaagatgtc gtttatgttc gtatcgatag 480  
aacacgtaaa ttaccattaa ctgtattgtt acgtgcgcta gggtttctcaa ctgatcaaga 540  
aatcgttgat ttaataggag acagtgaata tttacgtaat acattagaaa aagatggaac 600  
tgaaaataca gaacaagctt tattagaaat ttatgaacgt ttgcgtcctg gcgaaccacc 660  
aacagtagaa aatgctaaaa gcttattata ttcacgtttc ttcgatccta aacgctatga 720  
ttagcaagt gtaggtcgtt ataaagctaa caaaaagtta catttaaaac accgtttatt 780

|             |             |             |             |             |             |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| taatcaaaaa  | ctagcagaac  | caattgttaa  | tagtgaaaca  | ggtgagattg  | tagcggaaga  | 840  |
| aggtactgta  | cttgatcgtc  | gtaaactaga  | tgaaatcatg  | gacgtattgg  | agacaaacgc  | 900  |
| taatagcgaa  | gtctttgaac  | ttgaaggtag  | tgtcattgat  | gaaccagtag  | aaattcaatc  | 960  |
| aattaaagta  | tatgttccta  | atgatgaaga  | aggtcgaact  | actactgtta  | ttggtaaatgc | 1020 |
| attaccagac  | tcagaagtta  | aatgtattac  | tccggctgat  | attatcgccct | caatgagtta  | 1080 |
| cttctttaac  | ttattgaatg  | gaattgggta  | tacagatgat  | attgaccact  | taggtaatcg  | 1140 |
| tcgtttacgt  | tcagttgggtg | aattactaca  | aaaccaattc  | cgtatcggtt  | tgtctagaat  | 1200 |
| ggaacgtggt  | gtacgtgaga  | gaatgtcaat  | tcaagacact  | gattctatca  | ctccacaaca  | 1260 |
| attaattaat  | attcgccag   | tcattgcac   | tattaaagaa  | tttttttggtg | gttctcaatt  | 1320 |
| atctcaattc  | atggaccaag  | caaaccatt   | agctgagttg  | actcataaac  | gtcgtttatc  | 1380 |
| agctctagga  | cctgggtggtt | taactcgtga  | acgcgctcaa  | atggaagtac  | gtgacgtgca  | 1440 |
| ttattctcac  | tacggtcgta  | tgtgccctat  | tgaaacacct  | gagggcccaa  | acattggatt  | 1500 |
| aattaactca  | ttatctagtt  | atgcaagagt  | aatgaattt   | ggttttattg  | aaacacctta  | 1560 |
| tcgtaaagtt  | gatttagata  | ctaattcaat  | cactgaccaa  | attgactact  | taactgctga  | 1620 |
| tgaagaagat  | agttatgttg  | ttgcacaagc  | aaactcacgt  | cttgatgaaa  | atgggtgctt  | 1680 |
| cttagatgat  | gaagttgttt  | gtcgttttcg  | tggcaataac  | acagtgatgg  | ctaaagaaaa  | 1740 |
| aatggactat  | atggacgtat  | cacctaaaca  | agtagtttca  | gcagctactg  | catgtatccc  | 1800 |
| attcttagaa  | aacgatgact  | caaaccgagc  | attaatgggt  | gcaaacaatgc | aacgtcaagc  | 1860 |
| agtaaccatta | atgaaccag   | aagcgccatt  | tgttggaaca  | ggtatggaac  | atgtagcagc  | 1920 |
| gcgtgactca  | ggtgcagcaa  | ttactgctaa  | gcatagagga  | cgtgttgaa   | atgttgagtc  | 1980 |
| taatgaagtt  | ttagttcgtc  | gttttagtaga | agaaaatgg   | attgaacatg  | aaggtgaatt  | 2040 |
| agatcgctat  | ccattagcaa  | aattcaaacg  | ttcaaactct  | ggtacatgtt  | ataaccaacg  | 2100 |
| cccaattggt  | tctgttgag   | acgttgttga  | atataacgaa  | atttttagcag | acggtccttc  | 2160 |
| aatggaacta  | ggtgaaatgg  | cttttaggtcg | taacgtagtt  | gtaggtttca  | tgacttgagg  | 2220 |
| cgtgttataac | tatgaggatg  | ccgttatcat  | gagcgaacgt  | ttagttaaag  | atgatgtcta  | 2280 |
| tacatctatt  | catatcgaag  | aatacgaatc  | agaagcacgt  | gacactaaat  | taggacctga  | 2340 |
| agaaattact  | cgtgatattc  | ctaattgtgtc | tgaaagtgcg  | cttaaaaact  | tagacgatcg  | 2400 |
| tggtatcggt  | tatgttggtg  | ccgaagttaa  | agatggtgac  | atcttagtag  | gcaaagtaac  | 2460 |
| gcctaaaggt  | gtaacggaac  | taacagcaga  | agaaagatta  | ttacatgcta  | ttttcggtga  | 2520 |
| aaaggctcgt  | gaagttcgtg  | atacttcatt  | acgtgtacca  | catggtgcag  | ggggcatcgt  | 2580 |
| attagatgta  | aaagtcttca  | accgtgaaga  | gggcgatgac  | actttatctc  | ctggtgtaaa  | 2640 |
| tcaattagta  | cgtgtttata  | tcgttcaaaa  | acgtaaaatt  | catgtagggg  | ataaaaatgtg | 2700 |
| cgttcgtcat  | ggttaataaag | gtgttatttc  | taaaattgtt  | cctgaagaag  | atatgccata  | 2760 |
| cttacctgat  | ggtcgaccaa  | tcgacatcat  | gttaaattcca | cttggtgtac  | cttcacgtat  | 2820 |
| gaacattgga  | caagtgcctag | aattacactt  | aggtatggct  | gctaaaaact  | taggcatcca  | 2880 |
| cattgcatca  | ccagtatttg  | atggtgctaa  | tgatgatgat  | gtttggtcta  | caatcgaaga  | 2940 |
| ggccggcatg  | gcacgtgatg  | gtaagactgt  | attatatgat  | gggcgtacgg  | gtgaaccgtt  | 3000 |
| tgataaccgt  | atttctgtag  | gtgtaatgta  | catgcttaaa  | cttgctcaca  | tggttgatga  | 3060 |
| caaattgcat  | gcacgttcaa  | caggaccata  | ctcactcgtt  | acacaacaac  | cactcgggtg  | 3120 |
| taaagcacia  | tttggtggac  | aacgtttcgg  | tgagatggag  | gtatgggcac  | ttgaagcata  | 3180 |
| tggtgctgct  | tatactttac  | aagaaatctt  | aacttataaa  | tctgacgata  | cagtaggacg  | 3240 |
| tggttaaaact | tacgaatcta  | tcgttaaagg  | tgaaaacatc  | tctagaccaa  | gtgttcctga  | 3300 |
| gtcattccga  | gtactgatga  | aagaattaca  | aagtttagga  | ttagatgtta  | aagtaatgga  | 3360 |
| tgagcatgat  | aatgaaattg  | aatggcaga   | tgttgatgat  | gaagatgcaa  | cggaaacgcaa | 3420 |
| agtagattta  | caacaaaaaa  | atgctccgga  | atcacaaaaa  | gaaacaactg  | attaataagc  | 3480 |
| acttaagata  | aatgaatact  | taaagggtat  | gaaatgatta  | tcatttcaac  | ttcttttaggt | 3540 |
| attcgatttc  | aatgaaagta  | atcaatcaaa  | tagcacagct  | aatctaaatt  | gaaggaggta  | 3600 |
| ggctccttga  | ttgatgtaaa  | taatttccat  | tatatgaaaa  | taggattagc  | ttcacctgaa  | 3660 |
| aagattcgtt  | cttggtcata  | tggtgaagtt  | aagaaacctg  | aaacaataaa  | ctatcgtact  | 3720 |
| ttaaagccag  | aaaaagatgg  | tcttttctgt  | gaaagaattt  | tcggacctac  | aaaagactgg  | 3780 |
| gaaattttta  | a           |             |             |             |             | 3791 |

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 3855

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus lugdunensis

&lt;400&gt; 4

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| atgtcttatg | attggttcct | aaaagaaggt | ttactagaaa | tgttccgtga | tatctcacca | 60  |
| attgaagatt | tcacaggtaa | cctatcatta | gagttttag  | attacagatt | aggtgaacca | 120 |

|            |             |             |             |             |             |      |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| aagtatgatt | tagaagaatc  | gaaaaaatcgt | gacgctactt  | atgctgcacc  | tcttcgtggt  | 180  |
| aaagtgcgtc | tcgttataaa  | agaaacaggt  | gaagttaaag  | agcaagaagt  | atztatggga  | 240  |
| gacttcccat | taatgacaga  | tacaggtacg  | tttgttatta  | atggtgcaga  | gcgtgttatt  | 300  |
| gtatcgcaat | tagtacgttc  | accatccgtt  | tactttaatg  | aaaaaattga  | caaaaacgga  | 360  |
| cgagaaaatt | atgatgctac  | aatcattcct  | aaccgtggtg  | cctgggttaga | atacgaaaca  | 420  |
| gatgctaaag | atgttgtcta  | tggttcgtatt | gatagaactc  | gtaaattgcc  | attaactgtc  | 480  |
| ttattacgcg | cattaggcct  | ttcaactgat  | caagaaattg  | ttgagttggt  | aggcgataac  | 540  |
| gaatacttgc | gtaatacatt  | agaaaaagac  | ggaacagaaa  | acactgaaca  | agcgttatta  | 600  |
| gaaatttatg | aacgtttacg  | tcctgggtgaa | ccaccaacag  | ttgaaaatgc  | aaaaagttta  | 660  |
| ttatattctc | gcttcttcga  | tccgaaacgc  | tatgatttag  | caagcgttgg  | acgttataaa  | 720  |
| gcgaacaaaa | aattgcatct  | aaaacaccgt  | ttattttaatc | aaaaattagc  | agagcctatc  | 780  |
| gtaaacagcg | aaacaggtga  | aattgttgct  | gaagaaggta  | ctgtatttaga | tcgtcgcaaa  | 840  |
| ttagacgaaa | ttatggacgt  | tcttgaaaca  | aatgcgaata  | gtgaagtatt  | cgaattagaa  | 900  |
| ggaacagtaa | tagacgaacc  | ggttgaaatt  | caatcaatca  | aagtctatgt  | accaaataat  | 960  |
| gaagaagggt | gtacaacaac  | gataattggt  | aatgctttac  | cagattcaga  | agtgaatatg  | 1020 |
| atcacacctg | cagatattat  | ttcttctatg  | agttacttct  | tcaacttatt  | agctggcatt  | 1080 |
| ggttacacgg | atgatatcga  | tcatttaggt  | aaccgtcgtt  | tacgttcagt  | tggtgagtta  | 1140 |
| ttgcaaaacc | aattccgtat  | tggtttatca  | agaatggaac  | gtgttggtgcg | tgaaagaatg  | 1200 |
| tcaattcaag | ataccgaatc  | tatcacacca  | caacaattaa  | ttaatattag  | accagttatt  | 1260 |
| gcatcaatta | aagaattctt  | tggtagtctt  | caattatcac  | aattcatgga  | ccaagctaac  | 1320 |
| ccattagcag | aattaacaca  | caaacgtcgt  | ttatctgcgt  | taggacctgg  | tggtttaaca  | 1380 |
| cgtgaacgtg | cacaaatgga  | agttcgtgac  | gtgcattatt  | ctcactatgg  | ccgtatgtgt  | 1440 |
| ccgattgaaa | caccagaggg  | tccaaacatt  | ggtttgatta  | actcattatc  | tagttatgcg  | 1500 |
| cgtgtcaacg | agtttggtct  | tattgaaacg  | ccttatcgta  | aagtagatat  | tgatacaaat  | 1560 |
| gcaatcacag | atcaaattga  | ctacttaact  | gctgatgaag  | aagacagtta  | tgctcgttgc  | 1620 |
| caagcgaact | ctcgccttga  | tgaaaatggt  | cgtttcttag  | atgatgaagt  | agtatgccgt  | 1680 |
| ttccgcggta | ataatactgt  | tatggctaaa  | gaaaaaatgg  | actacatgga  | tgtatctcct  | 1740 |
| aaacaagttg | tttcagctgc  | gacagcatgt  | attccattct  | tagagaacga  | tgactctaac  | 1800 |
| cgtgcattga | tggttgcaaa  | catgcaacgt  | caagcagttc  | cgttgatgaa  | ccctgaagcg  | 1860 |
| ccgttcgtag | gaacaggtat  | ggagcatggt  | gctgctcgtg  | actctggtgc  | tgcgattact  | 1920 |
| gcaaaataca | gaggtcgtgt  | agaacacggt  | gaatctaatt  | aaatcctagt  | gcgtcgatta  | 1980 |
| attgaagaaa | atggaaaaga  | atatgaaggc  | gaacttgatc  | gctatccatt  | agcgaagttt  | 2040 |
| aaacgctcta | actctggtac  | atgttataac  | caacgtccaa  | ttgtttctat  | tgccgacggt  | 2100 |
| gtagaataca | atgaaattct  | agctgacggt  | ccatcaatgg  | agcttggtga  | aatggcatta  | 2160 |
| ggccgcaacg | ttgtagttag  | tttcatgact  | tggtgacggc  | ataactatga  | agatgctgtc  | 2220 |
| atcatgagtg | aacgtttagt  | caaagatgac  | gtttacacat  | ctattcatat  | tgaagaatat  | 2280 |
| gaatcagaag | cacgtgatac  | gaaattagga  | cctgaggaaa  | tcacacgtga  | tattcctaac  | 2340 |
| gtctctgaaa | gtgcacttaa  | aaacttagac  | gatcgcggtg  | ttgtttatgt  | aggtgcagaa  | 2400 |
| gttaaagatg | gcgatatttt  | agtaggtaaa  | gtaacgccta  | aaggtgtcac  | agagctaaca  | 2460 |
| gctgaagaac | gtctattaca  | tgcaatcttt  | ggtgaaaaag  | cacgtgaagt  | gcgtgacact  | 2520 |
| tcattgcgtg | taccacatgg  | tgctggcggt  | attgtgctag  | atgttaaagt  | cttcaaccgt  | 2580 |
| gaagaaggag | atgacacact  | ttctccaggt  | gttaaccaat  | tagtacgcgt  | atatattgtg  | 2640 |
| cagaaacgta | aaatacacgt  | tggggacaaa  | atgtgtggtc  | gtcatggtaa  | caaaggtgtc  | 2700 |
| atttctaaga | ttgttccaga  | agaggacatg  | ccttatttac  | cagatggacg  | tccaattgat  | 2760 |
| attatgttaa | accacttgg   | tgtgccatca  | cgtatgaaca  | ttggacaagt  | tctagagttg  | 2820 |
| catttaggta | tggctgctaa  | aaacttaggt  | attcatgttg  | cgtcaccagt  | atttgatggt  | 2880 |
|            |             |             |             |             |             |      |
| gcgaacgatg | aagatgtatg  | gtcaacaatt  | gaagaagctg  | gtatggcacg  | tgacggtaaa  | 2940 |
| accgtattat | atgatggccg  | tacaggtgag  | ccattcgaca  | accgtatctc  | agttggagtt  | 3000 |
| atgtacatgc | ttaaacttgc  | acatatgggt  | gatgacaaat  | tacatgctcg  | ttcaacaggt  | 3060 |
| ccatactcat | tagttacaca  | acaaccactt  | ggtggtaaaag | cacaatttgg  | tggaacaacgt | 3120 |
| ttcggtgaga | tggaagtatg  | ggcacttgaa  | gcttatgggtg | ctgcctatac  | attgcaagaa  | 3180 |
| atccttactt | ataaatctga  | tgatacggta  | ggccgtgtta  | aaacatacga  | agctatcgtt  | 3240 |
| aaaggtgaaa | acattttctag | accaagtgtt  | cctgaatcat  | tccgtgtatt  | gatgaaagaa  | 3300 |
| cttcaaagtt | taggttttaga | tgtgaaagtg  | atggatgagc  | acgataacga  | aatcgaaatg  | 3360 |
| gcagatgttg | aagatgaaga  | tacaacagag  | cgcaaagtag  | atttgcaaca  | aaaagatgcg  | 3420 |
| ccacaatctc | aacaagaaga  | aactgctgat  | tagtcaatat  | attagatata  | aggaatgggtg | 3480 |
| ttaggaacaa | gtgctacgga  | tgtttaaaca  | taatgtgttt  | tgagttgcat  | ccatcctaac  | 3540 |
| ctttccttaa | tttcaataga  | tgtaaatcaa  | tcaaattggca | cagctaattc  | aaattgaagg  | 3600 |
| aggtaggctc | cttgattgat  | gtaaataatt  | tccattatat  | gaaaatcggg  | ttagcctcac  | 3660 |
| ctgaaaaaat | tcgttcatgg  | tcatatgggtg | aagtgaaaaa  | accagaaaca  | attaattatc  | 3720 |



|            |            |             |            |            |            |      |
|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| gtacgttaaa | accagaaaaa | gatggccttat | tctgtgagag | aatattcggc | ccaactaaag | 3780 |
| attgggaatg | tagttgtggt | aaatacaaac  | gtgtgcgtta | taaaggcatg | gtttgtgata | 3840 |
| gatgtggtgt | tgtaa      |             |            |            |            | 3855 |

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 3698

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus caprae

&lt;400&gt; 5

|            |             |             |             |             |             |      |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| atgaaactta | atagaaattc  | aaactaaatc  | ttacgattgg  | ttccttaaag  | aaggtttatt  | 60   |
| agaaatgttt | agagacattt  | ctccaattga  | agatttcaca  | ggtaacctat  | ctttagaatt  | 120  |
| tgtagattat | agattaggtg  | atccgaaata  | cgatttagaa  | gaatctaaaa  | accgtgacgc  | 180  |
| tacttatgct | gcacctcttc  | gtgtgaaagt  | acgtctcatt  | attaaagaaa  | caggcgaagt  | 240  |
| gaaggaacaa | gaagtcttca  | tgggtgattt  | cccattaatg  | actgacacag  | gtacattcgt  | 300  |
| tatcaatggt | gctgaacgtg  | ttatcgtttc  | tcaattagta  | cgttcaccat  | ccgtttattt  | 360  |
| caacgagaaa | attgataaaa  | atggacgcga  | aaactacgat  | gcaactatca  | ttcctaaccg  | 420  |
| tggtgcttgg | ttagaatatg  | aaacagatgc  | gaaagatgta  | gtatacgttc  | gtatcgatag  | 480  |
| aactcgtaaa | ttaccattga  | cagtattatt  | acgtgcacta  | gatttctcaa  | ctgatcaaga  | 540  |
| aattgttgat | ttactaggtg  | agagtgaata  | tttacgtaat  | acattagaaa  | aagatggtag  | 600  |
| tgaaaatact | gaacaagcat  | tattagaaat  | ttatgaacgt  | ttacgtcctg  | gcgaaccacc  | 660  |
| aacagttgaa | aatgctaaaa  | gcttattata  | ctcacgcttc  | ttcgacccta  | aacgttatga  | 720  |
| tttagcaagt | gttggtcgtt  | acaaagctaa  | caaaaagtta  | catttaaaac  | accgtttatt  | 780  |
| taatcaaaaa | ttagcagaac  | ctattgttaa  | tagtgaaaca  | ggtgagattg  | tagctgaaga  | 840  |
| aggtactgta | ttagatcgtc  | gtaaaattga  | cgaaatcatg  | gacgttttag  | aaacaaacgc  | 900  |
| taacagtga  | gttttcgaat  | tagaaggtag  | cgttattgac  | gaacctgttg  | aaattcaatc  | 960  |
| aattaaagtc | tatgtacct   | atgatgaaga  | aggtcgcaca  | actactgtaa  | ttggtaatgc  | 1020 |
| attaccagat | tcagaagtta  | aatgtattac  | tccagctgat  | atcattgcgt  | caatgagtta  | 1080 |
| tttcttcaac | ttattaaatg  | gtattgggtta | tacagatgat  | atcgaccact  | taggtaaccg  | 1140 |
| tcgtttacgt | tcagttgggtg | aactttttaca | gaaccaatc   | cgtatcggtt  | tatcaagaat  | 1200 |
| ggaacgtgtt | gttcgtgaaa  | gaatgtctat  | tcaagacact  | gattcaatca  | caccacaaca  | 1260 |
| attaatcaac | attcgtccgg  | ttattgcgtc  | tattaaagaa  | ttcttcggaa  | gttcacaatt  | 1320 |
| atcgcaattc | atggaccaag  | ctaaccctatt | agctgagttg  | actcataaac  | gtcgtctatc  | 1380 |
| agcattagga | cctgggtggtt | taacgcgtga  | acgtgcccaa  | atggaagtgc  | gtgacgttca  | 1440 |
| ctattctcac | tatggccgta  | tgtgtccaat  | cgaaacacct  | gagggaccaa  | acattgggtt  | 1500 |
| aatcaactca | ttatcaagtt  | atgcacgagt  | aaatgaattt  | ggttttattg  | aaacacctta  | 1560 |
| tcgtaaagta | gatttagata  | cgaattctat  | cactgaccaa  | attgattact  | taactgctga  | 1620 |
| tgaagaagat | agttatgttg  | ttgcccaagc  | gaactctcgt  | ttagacgaaa  | atgggtcgtt  | 1680 |
| cttagatgac | gaagttgttt  | gtcgtttccg  | tggttaataac | acagttatgg  | ctaaagagaa  | 1740 |
| aatggactac | atggatgtat  | ctcctaaaca  | agtagtatct  | gcagcgacag  | cttgtattcc  | 1800 |
| attcttagaa | aatgatgact  | ctaaccgtgc  | attaatgggt  | gcgaacatgc  | aacgtcaagc  | 1860 |
| agtaccattg | atgaatccag  | aagcgccatt  | tgttgggtaca | ggtatggaac  | atgtagccgc  | 1920 |
| acgtgattca | ggtgcagcga  | ttactgctaa  | acatagagga  | cgcggtgaac  | acgttgaatc  | 1980 |
| taacgaagta | ttagtacgtc  | gttttagtaga | agaaaacggc  | actgaacatg  | aaggtgaatt  | 2040 |
| agatcgttac | ccattagcta  | aattcaaacg  | ttcaaactct  | ggtacatggt  | ataaccaacg  | 2100 |
| tccaattggt | tctggttggtg | atgtagtaga  | atacaatgaa  | atttttagctg | acggtccttc  | 2160 |
| aatggaatta | aggttgaaat  | ggcatagggg  | cgtaacgttg  | ttagttgggt  | tcattgacttg | 2220 |
| ggacggttat | aactacgagg  | atgctgttat  | catgagtga   | cgttttagtta | aagatgacgt  | 2280 |
| ttatacttct | attcacattg  | aagaatatga  | atctgaagct  | cgtgatacta  | agttaggacc  | 2340 |
| tgaagaaatt | actcgtgaca  | ttcctaacgt  | atctgaaagt  | gcacttaaaa  | acttagacga  | 2400 |
| tcgcggtatc | gtttatgttg  | gtgctgaagt  | taaagacggg  | gacatcttag  | taggtaaagt  | 2460 |
| aacgcctaaa | ggtgtaactg  | aattaacagc  | tgaagaaaga  | ttattacatg  | ctatcttcgg  | 2520 |
| tgaaaaggct | cgtgaagtcc  | gcgatacatc  | attacgtgta  | ccacatgggtg | caggcgggtat | 2580 |
| cgttctagat | gttaaagtat  | tcaatcgtga  | agaaggcgat  | gatacgttat  | ctccaggtgt  | 2640 |
| aaaccaattg | gtacgtgttt  | atatcgttca  | aaaacgtaaa  | attcatgtag  | gggacaaaat  | 2700 |
| gtgtggtcgt | cacggtaaca  | aaggtgttat  | ctctaaaatt  | gttcctgaag  | aagatatgcc  | 2760 |
| atacttacca | gatggtcgtc  | caatcgacat  | catgttaaac  | ccacttggtg  | taccatcacg  | 2820 |
| tatgaacatc | ggacaagtac  | ttgagttgca  | tttaggtatg  | gctgctaaga  | acttaggcac  | 2880 |
| ccatgtagca | tctccagtat  | tcgatgggtg  | aaacgatgat  | gatgtatggt  | caacaattga  | 2940 |
| agaagcaggt | atggctcgtg  | atggtaaaaac | tgtattatac  | gatggacgta  | caggtgaacc  | 3000 |

```

attcgataac cgtatttctg taggtgtcat gtacatgctt aaacttgctc acatggttga 3060
cgataaatta cacgcacgtt caactggacc atactcactt gttacacaac aaccacttgg 3120
tggtaaagca caattcgggtg gtcaacgctt cggtgagatg gaggtatggg cacttgaagc 3180
atatggtgct gcatacacat tacaagaaat cttaacttat aaatctgacg atacagtagg 3240
tcgtgttaaa acttacgaat ctatcgttaa aggtgaaaat atctctagac caagtgttcc 3300
agaatcattc agagtattga tgaaagaatt acaaagttta ggattagatg ttaaagtgat 3360
ggacgagcaa gacaacgaaa ttgaaatggc ggacgttgat gatgaagatg caactgaacg 3420
caaagtagat ttacaacaaa aaaatgctcc cgaatcacia aaagaaacaa ctgattaata 3480
agcacttaag ataaatgaat cctaaagagg ttatgagatg gttgccattt caacctcttt 3540
aaggatttcg atttcaatga atgtaaatca atcaaatagc acagctaata taaattgaag 3600
gaggtaggct ccttgattga tgtaaataat ttccattata tgaaaatagg attagcttca 3660
cctgaaaaaa ttcgttcttg gtcttatggg gaagttaa 3698

```

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 3851

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus intermedius*

&lt;400&gt; 6

```

atgtaaactt aatagaaatt cmaactaaat cgtatgattg gttcttaaaa gaaggtttat 60
tagaaatggt ccgtgatatt tctcctattg aagacttcac gggtaatctt tcattagaat 120
ttgttgatta tagattaggt gaaccaaagt atgatttaga agaatcaaaa aaccgtgatg 180
caacatacgc ggcaccatta cgtgtgaaag ttcgtttaat cattaaagaa acaggcgaag 240
tgaaagatca agaagtattt atgggtgatt tcccattaat gacagaaaca ggtacttttg 300
tgattaacgg ggcagaacgt gttatcgtat cacaattagt ccgttcacca tctgtatact 360
tcaatgaaaa attagataaa aacggatgcg tgaattatga tgcgacagtc attcctaacc 420
gtgggtgctt gttggaatat gaaacagatg cgaaagatgt cgtttatgtg cgtatcgata 480
gaacgagaaa gttaccatta acagtattat tacgtgcgtt aggttattca acagaccaag 540
aaattattga attaatggg gataatgaat atttacgtaa tacattagaa aaagatagca 600
cagaaaatac agagcaagca ttacttgaaa tttatgaacg tttacgtcca ggtgaaccac 660
ctactgtaga aaacgcaaaa agcttattat actcacgttt ctttgaccct aaacgttatg 720
atttagcaag cgttggacgt tataaagcaa acaaaaagtt acatttaaaa caccgcctat 780
tcaatcaaaa attagctgaa ccgatcgtaa atactgaaac aggcgaaatt gttgctgaag 840
aaggcactgt tttagatcgt cgtaaattag atgaaattat ggacgttctt gaaacaaatg 900
cgaatgcaca agtttatgaa cattccaaac ggatcattga tgagccagta gaaattcaat 960
caattaaagt atatgtaccg aatgatgatg aagaacgtac aacaacagtt attggtaatg 1020
cattcccaga ttcagaagtg aaatgtatta caccggctga tattgtggca tctatgtcat 1080
acttcttcaa cctattacat ggtattgggt acacagacga tattgaccac cttggtaacc 1140
gccgtctacg ttcagttggg gagttgttac aaaaccaatt ccgtatcggg ttatcaagaa 1200
tggaacgtgt ggtacgtgaa agaatgtcta ttcaagatac agactctatc acaccgcaac 1260
aattaattaa tattcgtcca gtgattgcat caattaaaga gttctttggg agctcgcaat 1320
tatctcaatt catggacca gcaacccac ttgctgagtt gactcacaaa cgtcgtctat 1380
cagcattagg acctggtggg ttaacgcgtg aacgtgctca aatggaagtg cgtgacgtac 1440
actactctca ctatggtcgt atgtgtccaa tcgaaacacc tgagggacca aacattgggt 1500
tgatcaactc attatctagt tatgcacgtg tgaacgaatt tgggtttatc gaaacaccat 1560
atcgtaaagt tgatattgaa acaatacga ttactgacca aatcgactac ttaactgctg 1620
atgaagaaga tagttatgtt gtcgcacaag cgaactcacg tcttgatgaa aacggtcgct 1680
ttattgatga tgagattgta tgcgttttcc gtggtaaaca cacaacgatg gcgaaagaaa 1740
aaatggacta catggacgta tcgccgaaac aagttgtatc agctgcgaca gcgtgtatcc 1800
cattcttaga aaacgatgac tctaaccgtg cgttaatggg tgcgaacatg cagcgtcaag 1860
cggtagcgtt gttaaaccct gaatctccat ttgtaggtac aggtatggaa cacgttgctg 1920
cacgtgactc aggtgctgct gtcatttcta aatatcgcgg tcgtgttgaa catgtccaat 1980
ctagcgagat tttagtccgt cgtttagtgt aagaaaacgg tcaagaagta gatggtacgt 2040
tagatcgtaa tccattagcg aaatttaaac gttcgaactc aggtacatgt tataaccaac 2100
gtccaatcat cgcaaaaggt gacattgtgg aaaaaggcga aatccttgct gatggtcctt 2160
caatggaact tggtgaaatg gcattaggtc agaaacgtag tagttggttc atgacttggg 2220
acggttataa ctatgaggat gccgttatca tgagtgaacg tttgggtaaa gatgatgtgt 2280
acacgtctat tcatattgaa gaatacgaat cagaagcgcg tgacacaaaa cttggacctg 2340
aagaaatcac acgtgatatt cctaacgtat ctgaaaatgc actgaaaaac ttagatgatc 2400
gcggtatcgt ttatgtaggt gcggaagtta aagacggcga catcttagtg ggtaaagtaa 2460

```

```

cgccaaaagg tgtaacagaa ttaactgcag aagaacgttt attacatgca atctttggtg 2520
aaaaagcacg tgaagtacgt gatacatcat tacgtgtacc tcacggcgcg gccggtattg 2580
tacttgatgt taaagtgttc aatcgtgaag aaggcgatga ttcactttca ccagggtgtga 2640
accaactcgt acgtgtttac attgttcaaa aacgtaaaat tcatgtaggg gacaaaatgt 2700
gtggtcgtca cggtaacaaa ggtgtcatct ctaaaattgt tcctgaagaa gacatgccgt 2760
acttaccaga cggtcgtcca atcgacatca tgttgaaccc actcgggtgta ccatctcgta 2820
tgaacatcgg acaagtttta gagctccact taggtatggc agctaaaaac ttaggtatcc 2880
acgttgcata accagtattc gatggcgga acgatgatga cgtatgggtc acaattgaag 2940
aagcaggtat ggcacgtgat ggtaaaactg tcctttacga tggacgtaca ggtgaaccat 3000
tcgacaaccg tatctctgta ggtgtcatgt acatgctgaa acttgcacac atgggtgatg 3060
acaagcttca cgcacgttct acaggacctt actcacttgt tacacaacaa ccgcttggtg 3120
gtaaagcaca gtttggtgga caaagatttg gtgagatgga ggtatgggca cttgaagcat 3180
acggtgcagc atacacatta caagaaatcc tcacatacaa atcagatgac acagtaggtc 3240
gtgtgaaaac ttacgaagct atcgttaaag gtgaaaacat ctcaagacca agtggttcctg 3300
aatcattccg cgtattgatg aaagaattac aaagtttagg tcttgacgtt aaagtgatgg 3360
acgaacaaga taacgaaatt gaaatgcgtg acttagacga tgatgatatt ccagatcgca 3420
aagtcaacat tcaaccatca actgttcctg aatcacaaaa agaatttaac gaataatgat 3480
gaattgtaga taagattaaa cggaatagaa acacttggtt aagcttgagt ttgtgttcaa 3540
atgtgacagt tgaaatacaa cagatgtcat gtacgattaa tctattcgga aatgtgatcg 3600
gaatccaacg agagggcttg ggtttcgatg catatccgat actgcaacat ttttaagata 3660
aattgtaaat caatcaacta gcacagttaa tttaaactaa aggaggtagg ctccttgatt 3720
gatgtaaata aattccatta catgaaaata ggactcgctt cacctgaaaa aattcgttct 3780
tggtcatatg gtgaggtcaa aaagccagaa acaattaact accgtacgtt aaaaccagaa 3840
aaagatggta a                                     3851

```

<210> 7  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 7  
 aaccaattcc gtatnggttt 20

<210> 8  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 8  
 ccgtcccaag tcatgaaac 19

<210> 9  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 9  
 caattcatgg accaagc 17

<210> 10  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle:amorce

<400> 10  
 gcnacntgnt ccatacctgt 20

<210> 11  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus xylosus

<400> 11  
 ttcagggttc atcaatggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacgggt 60  
 agagtcacatca ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gcagaaacaa cttgttttgg 120  
 tgaaacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180  
 acaaacaact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aatttagagt tggcttgtgc 240  
 taccacataa ctatcctctt catcagctgt taagtaatcg atttgctcag taatgctgtt 300  
 tgtttcaagg tctactttac gataagggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgtgc 360  
 ataactagac aatgagttga taagtccaat gtttggacct tcaggcggtt cgattggaca 420  
 catacggcca tagtcagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctagag cagataaacg acgtttgt 518

<210> 12  
 <211> 507  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus warneri

<400> 12  
 ttcaggattc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60  
 agagtcacatcg ttttctaaga atggaatata agctgttagcg gctgaaacaa cctgcttagg 120  
 tgaaacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattact gtgttattac cacggaaacg 180  
 acaaactact tcgtcatcta tgaaacgtcc gttttcatct aaacgtgaat tcgcttgggc 240  
 aacaacataa ctatcttctt cgtcagcagt taaataatca atttggtctg taatcgcatt 300  
 agtgtctaaa tccactttac gatatggtgt ttcaatgaaa ccaaattcgt ttacacgtgc 360  
 ataactagat aatgagttga ttaatccaat gtttggaccc tctggcggtt caattggaca 420  
 catacgacca tagtgagaat agtgtacgtc acgtacctcc atttgtgcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctaaag cagataa 507

<210> 13  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus simulans

<400> 13  
 ttcagggttc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta acgcacgggt 60  
 agagtcacatcg ttttctaaga atgggataca tgctgtcgct gcagatacaa cttgttttagg 120  
 agaaacgtcc atatatgcca ttttctctct atccatagtt gtgttggttac cacggaaacg 180  
 acaaacgatt tcttcgtcta agaaacgacc ttcgtcatct aaacgtgagt tcgcttgcgc 240  
 aacaacatag ctgtcttctt cgtctgcagt aaggtaatcg atttgatctg ttaccgcatt 300  
 tttctcatgg tcaactttac gatatggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat taacacgcgc 360  
 ataacttgat aatgagttga ttaaaccgat gttcggaccc tctgggtgtc cgattggaca 420  
 catacggcca tagtgagagt aatgcacgtc acgtacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480



taaaccacca ggtccaagtg cagatagacg acgtttat

518

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus sciuri

&lt;400&gt; 14

|            |            |            |             |             |            |     |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-----|
| ttctgggttc | attaaaggta | ccgcttgacg | ttgcatgttt  | gcacccataa  | gcgcacgggt | 60  |
| agagtcacgc | ttttctaaga | atggaataca | tgctgtcgct  | gcagaaacaa  | cttgtttagg | 120 |
| agatacatcc | atgtagtcca | tgcttcttt  | aggttttagta | gtgttggtccc | cacggaaacg | 180 |
| acaaagaact | tcatcatcaa | cgaatttacc | tgtttcatca  | agtacagagt  | ttgcttgtgc | 240 |
| aactacatag | ctgtcttctt | cgtcagctgt | taagtagtgc  | attctgtcag  | taacttggtt | 300 |
| tgtctcgatg | tttaccttac | gataagggtg | ttcaatgaaa  | ccaaattcat  | taactcttgc | 360 |
| ataacttgat | aatgagttga | ttaaaccaat | gtttgggtccc | tcaggcggtt  | caattggaca | 420 |
| catacgacca | tagtgagagt | agtgaacgtc | acgtacttcc  | ataccagcac  | gctcacgagt | 480 |
| taaaccaccc | ggtcctaata | ctgatag    |             |             |            | 507 |

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus schleiferi

&lt;400&gt; 15

|            |            |            |            |             |            |     |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|-----|
| ttctgggttt | aacaatggta | ctgcttgacg | ttgcatgttc | gcacccatca  | atgcacgggt | 60  |
| agagtcacgc | ttttctaaaa | acggaataca | tgctgtcgca | gctgaaacaa  | cttgtttagg | 120 |
| cgatacgtcc | atgtagtcca | tttttcttt  | agccatagtt | gtgttggttac | cacggaaacg | 180 |
| acaaacgatt | tcgtcatcga | taaaacgtcc | gttttcatca | agtcttgagt  | tcgcttgggc | 240 |
| aacaacataa | ctgtcttctt | catcagcagt | aaggtaatca | atacgggtctg | taattgtgtt | 300 |
| tgtttcaagg | tctacttttc | tgtatggagt | ttcaatgaaa | ccaaattcat  | tcacacgtgc | 360 |
| ataacttgaa | agtgagttga | tcaaaccaat | gtttggaccc | tctgggtgtct | cgattggaca | 420 |
| catacggcca | tagtgagaat | agtgtacgtc | acgaacttcc | atttgtgcac  | gttcacgtgt | 480 |
| taaaccacca | ggccctaaag | ctgataaacg | acgtttgt   |             |            | 518 |

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus saprophyticus

&lt;400&gt; 16

|             |            |            |            |            |            |     |
|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| ttctgggattc | atcaatggca | ctgcttgacg | ttgcatgttc | gcacccatca | atgcacgggt | 60  |
| agagtcacgc  | ttttctaaga | aaggaataca | tgctgtcgct | gcagaaacaa | cttgtttagg | 120 |
| tgagacatcc  | atataatcca | tttttcttt  | ggccataact | gtattattac | cacggaaacg | 180 |
| acaaacaact  | tcgtctgcta | tgaaacggcc | attttcgtct | aatggtgagt | ttgcttgtgc | 240 |
| tacaacatag  | ctatcttctt | catcagctgt | taaatagtca | atttgatccg | tgattgaatt | 300 |
| cgtttcaaga  | tccactttac | ggtaagggtg | ttcaataaag | ccgaattcat | ttacacgcgc | 360 |
| ataactagat  | aacgagttaa | taagtccgat | gtttggaccc | tctggcggtt | caattggaca | 420 |
| catacggcca  | tagtgagaat | agtgaacgtc | acgtacttcc | atttgagcac | gttcacgcgt | 480 |
| taaaccacca  | ggtcctagag | ctgataaacg | acgtttat   |            |            | 518 |

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus saccharolyticus

&lt;400&gt; 17

ttctgggttc attaatggta ctgcttgacg ttgcatgttt gcaccatta atgctcggtt 60



```

tgagtcacgcg ttttctaaga atgggataca tgcagtagct gctgaaacta cttgttttagg 120
tgatacgtcc atatatgtcca ttttttcttt agccatcact gtgttattgc cacgaaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaagcacc attttcatca agacgtgagt ttgcttgtgc 240
aacaacataa ctatcttctt catcagcagt taagtagtca atttggtcag tgattgaatt 300
agtatctaaa tcaactttac gataagggtgt ttcaataaaa ccaaattcat ttactcttgc 360
ataactagat aatgagttaa ttaatccaat gtttgggccc tcagggtgtt caatagggca 420
catacgaccg tagtgagaat aatgcacgtc acgtacttcc atttgagcgc gttcacgagt 480
taaaccacca ggtcctagag ctgataaacg acgtttat 518

```

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 508

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus pulveris

&lt;400&gt; 18

```

ttcaggattc attaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcaccataa gcgcacgggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaataca tgctgtcgca gcagaaacaa cctgttttagg 120
tgatacatcc atgtaatcca tacgttcttt aggtttcgta gtattatccc cacggaaacg 180
acaaagtact tcatcatcaa cgaatttacc tgtttcatca agtactgagt ttgcttgcgc 240
tacaacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taaatagtc atctgtcag taacttgggtt 300
tgtttcgata ttaaccttac gataaggcgt ttcaataaaa ccaaattcat taactctcgc 360
ataacttgat aaagagttaa ttaaaccgat gtttgggtccc tcagggtgtt caattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gttcacgaag 480
ttaaaccgcc gggtcctaata gctgatag 508

```

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus muscae

&lt;400&gt; 19

```

ttcaggattc aacaatggca cgccttgacg ttgcatgttc gcaccatta aggcacgggtt 60
agagtcacgc ttttctaaga atggaataca tgctgtcgca gcagaaacaa cttgcttcgg 120
cgatacgtcc atgtagtcca ttttctcttt tgccattgtt gtgttggttac cacggaaacg 180
acatacaatc tcatcatcaa taaagcgacc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgtgc 240
aaccacataa ctatcttctt catcagcagt taaatagtcg atttgatcag tgattgtgtt 300
cgtctcgata tcaactttac gatatgggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat taacacgtgc 360
ataactagat agtgagttga tcaaaccaat gttcagtccc tctgggtgtct caatcggaca 420
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480
caaaccacca ggcctaata gctgaaagacg acgcttat 518

```

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus lugdunensis

&lt;400&gt; 20

```

ttcagggttc atcaacggaa ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacgggtt 60
agagtcacgc ttctctaaga atggaataca tgctgtcgca gctgaaacaa cttgttttagg 120
agatacatcc atgtagtcca ttttttcttt agccataaca gtattattac cgcggaaacg 180
gcatactact tcatcatcta agaaacgacc attttcatca aggcgagagt tcgcttgtgc 240
aacgacataa ctgtcttctt catcagcagt taagtagtca atttgatctg tgattgcatt 300
tgtatcaata tctactttac gataaggcgt ttcaataaag ccaaactcgt tgacacgcgc 360
ataactagat aatgagttaa tcaaaccaat gtttggaccc tctgggtgtt caatcggaca 420
catacggcca tagtgagaat aatgcacgtc acgaacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaacg cagataaacg acgtttgt 518

```

<210> 21  
<211> 507  
<212> ADN  
<213> *Staphylococcus lentus*

<400> 21  
ttcagggttc attaaaggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta aggcacgggt 60  
agagtcacgc ttttcaagga aaggaatata tgctgatggc gcagaaacaa cttgtttagg 120  
agatacatcc atgtaatcca tacgttcttt aggttttagta gtgttggtcac cacggaaacg 180  
acaaagaact tcatcgctcg cgaatctacc agtttcatct aatactgagt ttgcttgtgc 240  
aacaacataa ctatcttctt catcagcagt tagataatca attctgtctg ttacttgggt 300  
agtttcgata ttaactttac gatatgggtg ttcaataaag ccaaactcgt taactctagc 360  
ataacttgaa agtgagttga ttaaaccaat gtttgggtccc tctgggtgtc caatcggaca 420  
catacgacca tagtgagaat agtgaacgct acgtacttcc ataccagcac gttcacgagt 480  
taaaccgccg ggtccaagcg ctgatag 507

<210> 22  
<211> 505  
<212> ADN  
<213> *Staphylococcus kloosii*

<400> 22  
ttcacgggttc atcaatggta cgccttgacg ttgcatgttc gcacccatta aggcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gccgaaacaa cttgttttgg 120  
tgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt cgccataact gtgttggttac cacggaaacg 180  
acaaactact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aatttagagt tagcttgccg 240  
taccacatag ctatcttctt catcagctgt taaatagtca atttgatctg tgattgaatt 300  
agtttctaaa tcaactttac ggtatgggtg ttcgataaag ccaaattcat taacacgtgc 360  
ataacttgat aatgagttga taagtccaat gtttggaccc tctggcggtt cgattggaca 420  
catacgacca tagtgagaat agtaacgtca cgcacttcca tttgagcacg ttcacgagtt 480  
aaaccaccag gtccaagcca gatag 505

<210> 23  
<211> 518  
<212> ADN  
<213> *Staphylococcus intermedius*

<400> 23  
ttcagggttt aacaacggta cgccttgacg ctgcatgttc gcacccatta acgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga atgggataca cgctgtcgca gctgatacaa cttgtttcgg 120  
cgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt cgccatcggt gtgttggttac cacggaaacg 180  
acatacaatc tcatcatcaa taaagcgacc gttttcatca agacgtgagt tcgcttgtgc 240  
gacaacataa ctatcttctt catcagcagt taagtagtcg atttgggtcag taatcgtatt 300  
tgtttcaata tcaactttac gatatgggtg ttcgataaaa ccaaattcgt tcacacgtgc 360  
ataactagat aatgagttga tcaaaccaat gtttgggtccc tcagggtgtt cgattggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgtacgct acgcacttcc atttgagcac gttcacgcgt 480  
taaaccacca ggtcctaatt ctgatagacg acgtttgt 518

<210> 24  
<211> 518  
<212> ADN  
<213> *Staphylococcus hyicus*

<400> 24  
ctctgggttc aataaaggca cggcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60  
cgagtcacgc ttttctaaga atgggataca tgctgtcgcc gcagaaacaa cttgtttcgg 120  
tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattgtt gtattgttcc cacggaaacg 180  
acaaacgatt tcgtcgctcg taaagcgctc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgggc 240

11/24

aacaacataa ctgtcttctt catccgcagt taagtaatca atttgatctg ttattgtatt 300  
cgtttcaagg tccactttac ggtaaggcgt ttcaatgaaa ccaaattcgt taacacgcgc 360  
ataacttgaa agtgagttga ttaatccaat gtttggaccc tctggcggtt cgattggaca 420  
catacgaccg tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgggcac gttcacgcgt 480  
taaaccacca ggtcctaata cagataaacg acgtttgg 518

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus hominis

&lt;400&gt; 25

ttcaggattc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta acgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttcaagga atggaatata agctgtcgct gctgatacta cttgtttagg 120  
agatacatcc atgtagtcca ttttttcttt tgccataaca gtgttggttac cacggaaacg 180  
acataccact tcatcatcta ggaaacgacc attttcatct aaacgagaat tggcttgtgc 240  
aactacatag ctatcttctt catcagcagt taaataatca atttgatcag taatcgaatt 300  
ggtatcaata tctactttac gatatggtgt ttcgataaaa ccaaattcat ttacacgtgc 360  
ataactagat aatgagttaa ttaaaccaat gtttgggtccc tctgggtgtt caattggaca 420  
catacgacca tagtgagaat agtgtacgtc acgaacttcc atttgtgcac gttcacgtgt 480  
taaaccacca ggtcctaag cagaaagacg acgtttag 518

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus haemolyticus

&lt;400&gt; 26

ttctgtgttc atcaatggta ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatta atgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttcaagga aaggaatata tgctgtcgca gctgaaacta cttgtttagg 120  
agatacgctc atgtagtcca ttttctcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180  
acatacgact tcatcatcta agaaacgacc attttcatct aagcgagagt tgccttgggc 240  
aactacatag ctatcttctt catcagcagt taagtagtcg atttgatctg taatagagtt 300  
agtgtctaag tctactttac gatatggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgtgc 360  
ataacttgat aatgagttaa tcaaaccaat gtttgggtccc tctggagtct cgatcggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
taaaccacca ggtcctaata cagaaag 507

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Staphylococcus gallinarum

&lt;400&gt; 27

ttcaggattc atcaaaggta cagcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga aaggaatata tgctgtcgca gcagatacaa cctgtttagg 120  
tgatacatcc atgtagtcca ttttttcttt tgccattaca gtgttggttac cacggaaacg 180  
acaaacgact tcatcttcta cgaaacgacc attttcatct aatacagagt ttgcttgtgc 240  
tactacataa ctgtcttctt catcagctgt taagtagtca atttgatctg taatagattg 300  
tgtttcaata tcaactttac gatatggtgt ttcaatgaaa ccaaattcat ttacacgcgc 360  
ataacttgat aatgagttga taagtccgat gtttggaccc tcagggtgtt cgattggaca 420  
catacggcca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480  
taaaccacca ggtcctaata ctgatag 507

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus felis*

&lt;400&gt; 28

```

ttcgggattc attaaaggta cagcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga atgggataca tgccgtcgca gcagaaacga cttgcttagg 120
cgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt ggccatcggt gtattgtttc cgcggaaacg 180
acatacaatc tcgtcatcca agaaacggcc ttcttcgtct aatcgtgcgt ttgcttgtgc 240
aacaacataa ctatcttctt catcagctgt aagatagtca atttggtctg taattttatt 300
tgtctcaaga tcgactttac gatatgggtg ttcgataaat ccaaattcgt taacacgtgc 360
ataacttgat aatgagttga ttaatccgat gttcggcccc tctggcggtt caataggaca 420
catgcgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atctgtgcac gttctctcgt 480
taaaccacca ggtcctaata cggatagacg acgtttat 518

```

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus equorum*

&lt;400&gt; 29

```

ttcaggattc atcaatggca ctgcttgacg ttgcatgttt gcacccatca atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga aaggaataca tgctgtcgca gcagaaacaa cttgttttagg 120
tgaaacatcc atgtagtcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcgtcttcta cgaaacgacc attttcatct aatacagagt ttgcttgagc 240
tactacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taagtagtca atttggtctg tgattgaatg 300
tgtttcaaga tctactttac ggtaagggtg ttcaatgaaa ccaaattcat tcacacgcgc 360
ataactagat agtgagttga taagtccgat attcggaccc tctggtgttt cgattggaca 420
catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccgccg ggtcctaata ctgataa 507

```

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus epidermidis*

&lt;400&gt; 30

```

ttcaggattc attaaaggca cgccttgacg ttgcatgttt gctcccatca acgcacgggt 60
agagtcgtca ttttctaaga atggaataca tgctgttgct gctgaaacaa cttgttttgg 120
tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccataaca gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaaacgacc attttcatca agtctagaat tagcctgtgc 240
aacaacgtag ctatcctctt catcagctgt caaataatct atttgatcag tgattgagtt 300
tgtatctaaa tccactttac gatatggcgt ttcaataaaa ccaaattcat tcaactctagc 360
ataacttgac aatgagttta ttaaaccaat attaggaccc tcagggtgtt caattggaca 420
catacgcca tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taatccacca ggccctagag cagataaacg acgtttgt 518

```

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 507

&lt;212&gt; ADN

<213> *Staphylococcus cohnii*

&lt;400&gt; 31

```

ttctggattc atcaatggga ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacgggt 60
agagtcacgc ttttctaaga atggaataca tgctgttgct gcagaaacaa cctgttttagg 120
agatacatcc atgtaatcca ttttttcttt tgccataact gtgttattac cacggaaacg 180
acaaacaact tcatcatcta agaagcgacc attttcatct aacttagaat ttgcttgtgc 240
tactacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaataatca atttgatctg tgatactatt 300
cgtttcaaga tctactttac gatatggcgt ttcaatgaaa ccaaattcat ttacacgtgc 360

```

ataacttgat aatgagttaa tcaaaccaat gtttggtccc tctggtgttt cgattggaca 420  
 catacgaccg tagtgagagt agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacca ggtcctaata ctgatag 507

<210> 32  
 <211> 507  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus chromogenes

<400> 32  
 ctcaggattt aacaaaggca ccgcttgacg ttggatgttc gcacccatta acgcacggtt 60  
 agagtcacgc ttttctaaga acggaatata tgcagttgcc gcagaaacaa cttgcttcgg 120  
 tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt agccattggt gtattgttcc cacggaaacg 180  
 acaaacgatt tcgtcgtcga taaagcgtcc attttcatct aaacgtgagt tcgcttgggc 240  
 aacaacataa ctgtcttctt cgtccgcagt taaataatca atttgatcag taattgcgtt 300  
 cgtttcaagg tctactttac gatacggcgt ttcaataaaa ccaaattcat taacacgcgc 360  
 ataacttgaa agtgagttga ttaatccaat atttggaccc tctggtgttt cgattggaca 420  
 catacgaccg tagtgagaat agtgaacgtc acgcacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
 taaaccacct ggtcctaag cagataa 507

<210> 33  
 <211> 1025  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus carnosus

<400> 33  
 ttctggattc atcaatggta ccgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacggtt 60  
 agagtcacgc ttttctaaga atgggataca agctgtcgca gctgatacta cttgttttgg 120  
 tgatacgtcc atgtagtcca ttttgtctct gtccatcatt gtgttggtac cacggaaacg 180  
 acaaacaact tcttcgctga tgaagtgacc ttcacatctt aaacgagagt tcgcttgggc 240  
 tacaacatag ctgtcttctt cgtcagctgt tagatagtcg atttgatcag ttacagtatt 300  
 agtttcaagg tcaactttac ggtatggtgt ttcaataaaa ccgaactcgt taacacgtgc 360  
 ataacttgat aatgagttga tcaaaccaat gtttggaccc tcaggagttt cgattggaca 420  
 catacgacca tagtgagaat agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480  
 taaaccacca ggtcctaata cagataattc tggattcatc aatggtactg cttgacgttg 540  
 catgttcgca cccattaatg cacgggttaga gtcacatctt tctaagaatg gaatacaagc 600  
 tgctcgtgca gatactactt gtttaggaga tacatccatg tagtccattt tctctttagc 660  
 cataactgtg ttattaccac ggaaacgaca aacaacttcg tcatctaaga aacgaccatt 720  
 ttctgtctaaa cgagagttcg cttgggcaac aacataacta tcttcttcat cagcagttta 780  
 gtaatcaatt tggtcagtga tagaattcgt atctaatact actttacgat aagggtgtttc 840  
 aataaaaacca aattcattta ctcgtgcata acttgataat gagttgatta aaccaatgtt 900  
 tgggtccctca ggtgtttcga ttggacacat acggccatag tgagaatagt gaacgtcacg 960  
 cacttccatt tgggcacgtt cacgcgttaa accaccaggt cctaatactg atagacgacg 1020  
 tttat 1025

<210> 34  
 <211> 518  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus capitis

<400> 34  
 ttcatgttgc atcaatggta ccgcttgacg ttgcatgttc gcacccatta atgcacggtt 60  
 agagtcacgc ttttctaaga atgggaatata tgctgtagct gctgatacaa cttgttttagg 120  
 tgatacgtcc atgtaatcca ttttttcttt tgccataact gtgttattac cacggaaacg 180  
 acaaacaacc tcgtcatcta agaaacgacc attttcgtct aaacgtgagt tggcttgggc 240  
 aactacatag ctatcttctt catcagcagt taagtaatcg atttgatctg tgatagagtt 300  
 cgtatctaaa tcaactttac gatacggtgt ctcgatgaaa ccaaattcat ttactcgcgc 360  
 ataacttgat aatgagttaa ttaaaccaat atttggaccc tctggtgttt caattggaca 420



catacgacca tagtgtgagt aatgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgagt 480  
taaaccacca ggtcctaata ctgatagacg acgttttg 518

<210> 35

<211> 507

<212> ADN

<213> *Staphylococcus auricularis*

<400> 35

ttctgggttc attaaaggta ccgcttgacg ttgcatgttt gcaccataa gcgcacgggt 60  
agagtcacgc ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gcagaaacaa cttgtttagg 120  
agatacatcc atgtagtcca tgcgttcttt aggttttagta gtgttggtccc cacggaaacg 180  
acaaagaact tcatcatcaa cgaatttacc tgtttcatca agtacagagt ttgcttgtgc 240  
aactacatag ctgtcttctt cgtcagctgt taagtagtgc attctgtcag taacttggtt 300  
tgtctcgatg tttaccttac gataagggtt ttcaatgaaa ccaaattcat taactcttgc 360  
ataacttgat aatgagttga ttaaaccaat gtttgggtccc tcaggcggtt caattggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc ataccagcac gctcacgagt 480  
taaaccaccc ggtcctaata ctgatag 507

<210> 36

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 36

ttctggattc atcaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60  
tgagtcacga ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gctgaaacaa cttgcttcgg 120  
cgatacatcc atataatcca ttttttcttt agccataact gtgttggttac cacggaaacg 180  
acatacaact tcatcatcca tgaaacgacc attttcatct aatttagagt ttgcttgtgc 240  
tacaacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaatagtca atttgatcag tgatagcatg 300  
tgtatctaaa tcaactttac gatatgggtt ttcaataaag ccgaattcat ttacacgtgc 360  
ataacttgat aatgagttaa tcaatccaat gtttgggtccc tcagggtgtt caattggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
taaaccacca ggtcctaata ctgatagacg acgtttat 518

<210> 37

<211> 507

<212> ADN

<213> *Staphylococcus aureus anaerobius*

<400> 37

ttctggattc atcaaaggca ctgcttgacg ttgcatgttc gcacccatca atgcacgggt 60  
tgagtcacga ttttctaaga atggaatata tgctgtcgct gctgaaacaa cttgcttcgg 120  
cgatacatcc atataatcca ttttttcttt agccataact gtattgttac cacggaaacg 180  
acatacaact tcatcatcca tgaaacgacc attttcatct aatttagagt ttgcttgtgc 240  
tacaacatag ctatcttctt cgtcagctgt taaatagtca atttgatcag tgatagcatg 300  
tgtatctaaa tcaactttac gatatgggtt ttcaataaag ccgaattcat ttacacgtgc 360  
ataacttgat aatgagttaa tcaatccaat gtttgggtccc tcagggtgtt caattggaca 420  
catacgacca tagtgagagt agtgaacgtc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480  
taaaccacca ggtcctaata ccgatag 507

<210> 38

<211> 518

<212> ADN

<213> *Staphylococcus arlettae*

<400> 38

```

ttcacgggttc atcaacggta ctgcttgacg ttgcatgttc gcaccatta atgcacgggt 60
agagtcacgcg ttttctaaga aaggaataca tgccgttgca gctgaaacta cttgcttagg 120
tgatacgtcc atgtagtcca ttttttcttt agccataact gtgttattac cgcggaacg 180
acaaacaact tcgtcatcta aaaacttacc attttcatct aagttagagt tggcttgtgc 240
taccacatag ctgtcctctt catcagcagt taggtaatca atttgatctg taattgagtt 300
tgttgctaaa tctactttac ggtacggcgt ttcgataaag ccaaattcat ttacacgtgc 360
ataacttgat agtgagttaa ttaaaccgat gtttggtccc tctggtgttt cgataggaca 420
catacggcca tagtgagaat agtgtagctc acgtacttcc atttgagcac gttcacgtgt 480
taaaccacca ggtcctaata ctgataaacg acgtttat 518

```

<210> 39  
 <211> 556  
 <212> ADN  
 <213> Staphylococcus caprae

```

<400> 39
taaccatta gctgagttga ctcataaacg tcgtctatca gcattaggac ctggtgggttt 60
aacgcgtgaa cgtgcccaaa tggagtgcg tgacgttcac tattctcact atggccgtat 120
gtgtccaatc gaaacacctg agggaccaaa cattgggtta atcaactcat tatcaagtta 180
tgcacgagta aatgaatttg gttttattga aacaccttat cgtaaagtag atttagatac 240
gaattctatc actgaccaa ttgattactt aactgctgat gaagaagata gttatgttgt 300
tgcccaagcg aactctcgtt tagacgaaa tggtcgtttc ttagatgacg aagttgtttg 360
tcgtttccgt ggtaataaca cagttatggc taaagagaaa atggactaca tggatgtatc 420
tcctaaacaa gtagtatctg cagcgacagc ttgtattcca ttcttagaaa atgatgactc 480
taaccgtgca ttaatgggtg cgaacatgca acgtcaagca gtaccattga tgaatccaga 540
agcgccattt gttggt 556

```

<210> 40  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

```

<400> 40
ggtttaggat taaaagatgc 20

```

<210> 41  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

```

<400> 41
gaagaagttg gagctactg 19

```

<210> 42  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Séquence artificielle

<220>  
 <223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 42  
aataagagca gggaaagaaa c

21

<210> 43  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 43  
aaagaaaaga atgaatgaac tt

22

<210> 44  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 44  
tatgcttatg gtatttagct a

21

<210> 45  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 45  
aaacttaata gaaattcaaa ctaaa

25

<210> 46  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 46  
gttcaaacga taaatagaga a

21

<210> 47  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 47

gaaacagatg ctaaagatgt

20

<210> 48  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 48  
ccatatactg cgagtgggaa

20

<210> 49  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 49  
tagaaattca atcaattaag tatatg

26

<210> 50  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 50  
ttggtaatgc ttaccagat

20

<210> 51  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 51  
tgcattacac cagcagatat cattg

25

<210> 52  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 52  
gatgatattg accatttagg

20

<210> 53  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 53  
tgaaagaatg tcaattcaag a

21

<210> 54  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 54  
aaaccatta gctgagtt

18

<210> 55  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 55  
tggtcgtttc atggatgatg aagttg

26

<210> 56  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 56  
aagatagcta tgttgtagca

20

<210> 57  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 57  
cttagagaac gatgactcta a

21



<210> 58  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 58  
tagttggttt catgacttgg ga

22

<210> 59  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 59  
ttgaaagtcc aacaaagcaa

20

<210> 60  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 60  
ggtaaagtaa cgcctaaagg t

21

<210> 61  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 61  
tggaggtatg ggcacttgaa

20

<210> 62  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 62  
acatcttttag catctgtttc

20

<210> 63  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 63  
atcgtttgaa cgccactctt 20

<210> 64  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 64  
tcatagtaag tttgcgccat 20

<210> 65  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 65  
atctggtaaa gcattaccaa 20

<210> 66  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 66  
caatgatatc tgctggtgta atgca 25

<210> 67  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 67  
cctaaatggt caatatcatc 20

<210> 68

<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 68  
cgaatattaa ttaattgttg

20

<210> 69  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 69  
gtgatagcat gtgtatctaa atca

24

<210> 70  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 70  
taactatctt cttcatcagc

20

<210> 71  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 71  
tgctacaaca tagtatctt

20

<210> 72  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Séquence artificielle

<220>  
<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 72  
caacttcac atccatgaaa cgacca

26

<210> 73  
<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 73

atgcaacgtc aggccgttcc g

21

<210> 74

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 74

agacgacgaa cagaatttca

20

<210> 75

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 75

gctcgaatga taacgtgatt

20

<210> 76

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 76

acttgtccaa tgttcatacg

20

<210> 77

<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 77

catatgcttc aagtgcccat a

21

<210> 78

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 78

ccaagtgggtt gttgtgtaac

20

<210> 79

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 79

tttagagctt tcactgtttg

20

<210> 80

<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 80

caccatatga ccaagaacga a

21

<210> 81

<211> 22

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 81

caatcaagga gcctacctcc tt

22

<210> 82

<211> 21

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 82

gaaattatattt acatcaatca a

21

<210> 83

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle



<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 83

taactatctt cttcatcagc

20

<210> 84

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 84

cccagtcttt tgtaggtccg

20

<210> 85

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle: amorce

<400> 85

cccattcttt cacgacgtac

20

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FR 02/03012A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12Q1/68 C07K14/31 C12N15/31

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C12Q C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, GENSEQ, EMBL

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X          | WO 01 34809 A (GLAXO GROUP LTD ;KIMMERLY<br>WILLIAM JOHN (US))<br>17 May 2001 (2001-05-17)<br>page 143, line 35 -page 144, line 20                          | 3,6,7,<br>11,14       |
| Y          | page 26, line 1-5   | 1-14                  |
| X          | WO 98 23738 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP<br>;WARREN RICHARD LLOYD JR (US))<br>4 June 1998 (1998-06-04)<br>page 35-36  | 1,3,6,7,<br>11,14     |
| Y          | page 21, last paragraph -page 23,<br>paragraph 2  | 1-14                  |
| Y          | WO 99 05316 A (KOOK YOON HOH ;BIONEER CORP<br>(KR); KIM BUM JOON (KR))<br>4 February 1999 (1999-02-04)<br>page 6, line 30 -page 7, line 20; examples<br>1-5 | 1-14                  |
|            | ---<br>-/-  |                       |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 January 2003

Date of mailing of the international search report

03/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

ALCONADA RODRIG..., A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 02/03012

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| Y          | MOLLET C ET AL: "RPOB SEQUENCE ANALYSIS AS A NOVEL BASIS FOR BACTERIAL IDENTIFICATION"<br>MOLECULAR MICROBIOLOGY, BLACKWELL SCIENTIFIC, OXFORD, GB,<br>vol. 26, no. 5, 1997, pages 1005-1011,<br>XP000913977<br>ISSN: 0950-382X<br>page 1009, right-hand column, paragraph 2<br>* voire le dernier phrase de l'abrégé * | 1-14                  |
| A          | ROWLAND G C ET AL: "Comparative sequence analysis and predicted phylogeny of the DNA-dependent RNA polymerase beta subunits of Staphylococcus aureus and other eubacteria."<br>BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS,<br>vol. 21, no. 1, February 1993 (1993-02),<br>page 40S XP008003308<br>the whole document              | 1-14                  |
| T          | DRANCOURT MICHEL ET AL: "rpoB Gene Sequence-Based Identification of Staphylococcus Species."<br>JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY,<br>vol. 40, no. 4, April 2002 (2002-04),<br>pages 1333-1338, XP008003295<br>the whole document  | 1-14                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat plication No  
PCT/FR 02/03012

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date |                      | Patent family<br>member(s)                         |  | Publication<br>date                                  |
|---|---|---------------------|----------------------|--|--|--|
| WO 0134809                                | A | 17-05-2001          | AU<br>WO             | 1478301 A<br>0134809 A2                            |  | 06-06-2001<br>17-05-2001                             |
| WO 9823738                                | A | 04-06-1998          | EP<br>JP<br>WO       | 0966529 A1<br>2001510990 T<br>9823738 A2           |  | 29-12-1999<br>07-08-2001<br>04-06-1998               |
| WO 9905316                                | A | 04-02-1999          | KR<br>AU<br>WO<br>US | 234975 B1<br>8464898 A<br>9905316 A1<br>6242584 B1 |  | 15-12-1999<br>16-02-1999<br>04-02-1999<br>05-06-2001 |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demander nationale No  
PCT/rk u2/03012

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 C12Q1/68 C07K14/31 C12N15/31

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N C12Q C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, GENSEQ, EMBL

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents  | no. des revendications visées |
|-------------|---|-------------------------------|
| X           | WO 01 34809 A (GLAXO GROUP LTD ;KIMMERLY WILLIAM JOHN (US))<br>17 mai 2001 (2001-05-17)<br>page 143, ligne 35 -page 144, ligne 20                         | 3,6,7,<br>11,14               |
| Y           | page 26, ligne 1-5  | 1-14                          |
| X           | WO 98 23738 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP ;WARREN RICHARD LLOYD JR (US))<br>4 juin 1998 (1998-06-04)<br>page 35-36   | 1,3,6,7,<br>11,14             |
| Y           | page 21, dernier alinéa -page 23, alinéa 2  | 1-14                          |
| Y           | WO 99 05316 A (KOOK YOON HOH ;BIONEER CORP (KR); KIM BUM JOON (KR))<br>4 février 1999 (1999-02-04)<br>page 6, ligne 30 -page 7, ligne 20;<br>exemples 1-5 | 1-14                          |
|             | -/-   |                               |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 janvier 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

03/02/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

ALCONADA RODRIG..., A



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR 02/03012

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS |  |                               |
|---|--|-------------------------------|
| Catégorie                                       | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents   | no. des revendications visées |
| Y   | <p>MOLLET C ET AL: "RPOB SEQUENCE ANALYSIS AS A NOVEL BASIS FOR BACTERIAL IDENTIFICATION"</p> <p>MOLECULAR MICROBIOLOGY, BLACKWELL SCIENTIFIC, OXFORD, GB,<br/>vol. 26, no. 5, 1997, pages 1005-1011,<br/>XP000913977<br/>ISSN: 0950-382X<br/>page 1009, colonne de droite, alinéa 2<br/>* voire le dernier phrase de l'abrégé *</p> | 1-14                          |
| A   | <p>ROWLAND G C ET AL: "Comparative sequence analysis and predicted phylogeny of the DNA-dependent RNA polymerase beta subunits of Staphylococcus aureus and other eubacteria."</p> <p>BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS,<br/>vol. 21, no. 1, février 1993 (1993-02),<br/>page 40S XP008003308<br/>le document en entier</p>           | 1-14                          |
| T   | <p>DRANCOURT MICHEL ET AL: "rpoB Gene Sequence-Based Identification of Staphylococcus Species."</p> <p>JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY,<br/>vol. 40, no. 4, avril 2002 (2002-04),<br/>pages 1333-1338, XP008003295<br/>le document en entier</p>  | 1-14                          |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/TR 02/03012

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche |   | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s)                        | Date de<br>publication                               |
|---|---|------------------------|--|--|
| WO 0134809                                      | A | 17-05-2001             | AU 1478301 A<br>WO 0134809 A2                                  | 06-06-2001<br>17-05-2001                             |
| WO 9823738                                      | A | 04-06-1998             | EP 0966529 A1<br>JP 2001510990 T<br>WO 9823738 A2              | 29-12-1999<br>07-08-2001<br>04-06-1998               |
| WO 9905316                                      | A | 04-02-1999             | KR 234975 B1<br>AU 8464898 A<br>WO 9905316 A1<br>US 6242584 B1 | 15-12-1999<br>16-02-1999<br>04-02-1999<br>05-06-2001 |

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☒ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**